

THESE

présentée à l'U.E.R des Sciences de la Nature
de l'Université de Nantes

pour obtenir le grade de
DOCTEUR ES-SCIENCES NATURELLES

par

Raymond FERRAND

**ETUDE EXPERIMENTALE DES FACTEURS DE LA
DIFFERENCIATION HISTOLOGIQUE ET PHYSIOLOGIQUE
DE L'ADENOHYPOPHYSE CHEZ L'EMBRYON D'OISEAU.**

Soutenue le 18 Février 1972 devant la Commission d'Examen :

M. G. LE DOUARIN, Professeur,	Président	
Mme N. LE DOUARIN, Professeur		
M. M. HERLANT, Professeur à l'Université Libre de Bruxelles, Correspondant de L'Institut	}	Examineurs
M. I. ASSENMACHER, Professeur		

sous la présidence d'honneur de M. Et. WOLFF, Professeur au Collège de France
Membre de l'Institut.

THESE

présentée à l'U.E.R des Sciences de la Nature
de l'Université de Nantes

pour obtenir le grade de
DOCTEUR ES-SCIENCES NATURELLES

par

Raymond FERRAND

— —

ETUDE EXPERIMENTALE DES FACTEURS DE LA
DIFFERENCIATION HISTOLOGIQUE ET PHYSIOLOGIQUE
DE L'ADENOHYPOPHYSE CHEZ L'EMBRYON D'OISEAU.

—

Soutenue le 18 Février 1972 devant la Commission d'Examen :

M. G. LE DOUARIN, Professeur,	Président	
Mme N. LE DOUARIN, Professeur		
M. M. HERLANT, Professeur à l'Université Libre de Bruxelles, Correspondant de L'Institut		} Examineurs
M. I. ASSENMACHER, Professeur		

sous la présidence d'honneur de M. Et. WOLFF, Professeur au Collège de France
Membre de l'Institut.



UNIVERSITE DE NANTES

Président	M. J. -P. KERNEIS	Médecine
Vice-Président	M. J. PETRESCO	Mathématiques
Secrétaire Général	M. A. LERAY	

- - - - -

U.E.R. de l'Ensemble administratif Sciences

Professeurs

MM.	G. BRILLOUET	Mathématiques
	I. MOLINARO	"
	C. PAUC	"
	J. PETRESCO	"
	R. RAFFIN	"
MM.	P. AVIGNON	Physique
	A. BOULOU	"
	L. COLLET	"
	S. MINN	"
	H. MOUTON	"
MM.	J. -M. DUNOYER	Chimie
	Y. GRAFF	"
	J. PIERI	"
	H. QUINIOU	"
	B. WOJTKOWIAK	"
M.	P. CAVET	Sciences de la Nature
Melle	G. DEBRAUX	"
M.	R. GARRIGUES	"
Mme	N. LE DOUARIN	"
MM.	G. LE DOUARIN	"
	R. SELLIER	"

Professeurs sans chaire

M.	Y. MEYER	Mathématiques
MM.	J. -P. BARDON	Physique
	G. GOUREAUX	"
	W. LASKAR	"
MM.	G. MARTIN	Chimie
	J. ROUXEL	"
	M. TOURNOUX	"
MM.	P. DUPONT	Sciences de la Nature
	F. OTTMANN	"
	Y. SAUDRAY	"

Maîtres de Conférences

MM.	A. FOUQUES	Mathématiques
	H. IBISCH	"
	D. LEBORGNE	"
MM.	R. LE BIHAN	Physique
	R. LE MAITRE	"
	P. LONCKE	"
	L. ROSIER	"
M.	M. CHABANEL	Chimie
Mme	M. MARTIN	"
MM.	L. AMOURIQ	Sciences de la Nature
	F. FORESTIER	"
	D. LEBRUN	"
	A. NICOLAS	"
Mme	D. NICOLAS-PRATT	"

AVANT-PROPOS

Ce travail a été réalisé au Laboratoire de Physiologie animale et cellulaire de l'U.E. R. des Sciences de la Nature de l'Université de Nantes sous la direction de Monsieur le Professeur G. LE DOUARIN.

Monsieur le Professeur G. LE DOUARIN, lorsqu'il a créé le Laboratoire de Physiologie animale à la Faculté des Sciences de Nantes, nous a proposé un sujet de recherche qui tenait compte de nos activités antérieures. Ce thème de recherche a pu ainsi être abordé dans des conditions très favorables. Monsieur le Professeur G. LE DOUARIN nous a initié à de nombreuses techniques; il nous a guidé dans la progression de notre travail et nous a fourni toutes les facilités matérielles pour le mener à bien. Nous tenons à dire à Monsieur le Professeur G. LE DOUARIN que nous n'avons pas oublié les circonstances particulières dans lesquelles il nous a ouvert son Laboratoire. La compréhension qu'il a manifestée à notre égard nous a permis de franchir une période difficile et nous voudrions que la gratitude que nous sommes heureux de lui témoigner soit à la mesure de ce que nous lui devons.

Nous avons eu le privilège de bénéficier également de l'aide et des conseils de Madame le Professeur N. LE DOUARIN qui a bien voulu nous faire

profiter de sa vaste connaissance des problèmes embryologiques et guider nos recherches dans ce domaine. C'est ainsi dans le cadre de l'étroite collaboration des Laboratoires dirigés par Monsieur et Madame LE DOUARIN que nous avons reçu notre formation scientifique par ces deux Maîtres. L'hommage que nous leur rendons serait incomplet si nous n'évoquions l'atmosphère de travail qu'ils ont su créer et leur totale disponibilité pour conseiller et encourager les chercheurs.

Monsieur le Professeur Et. WOLFF, Administrateur du Collège de France, Membre de l'Institut, a bien voulu prendre intérêt à la progression de nos recherches et présenter nos Notes à l'Académie des Sciences. Nous nous sentons particulièrement honoré qu'il ait accepté la Présidence d'honneur de ce Jury. Conscient de la faveur que constitue le sacrifice du temps qu'il veut bien nous consacrer malgré l'ampleur de ses responsabilités, nous prions ce Maître prestigieux de trouver ici l'expression de notre très respectueuse gratitude.

Monsieur le Professeur HERLANT, Directeur du Laboratoire d'Histologie de l'Université libre de Bruxelles, nous a fait bénéficier de sa haute compétence en acceptant d'examiner nos préparations histologiques. Les conseils qu'il nous a fournis et l'intérêt qu'il a manifesté pour notre travail ont constitué pour nous un encouragement précieux. Nous l'assurons de notre profonde reconnaissance et le remercions très vivement d'avoir bien voulu venir participer au Jury de thèse.

Il n'est pas besoin de souligner l'importance qui s'attache au jugement de Monsieur le Professeur ASSENMACHER dans un domaine de recherche qui a grandement bénéficié de son oeuvre scientifique. Nous lui sommes très reconnaissant de l'honneur qu'il nous fait en acceptant de participer à ce Jury.

Nous remercions très sincèrement Monsieur le Professeur PEYRE qui nous a reçu à plusieurs reprises dans son Laboratoire de la Faculté des Sciences de Poitiers.

Nous exprimons tous nos remerciements à nos Collègues du Laboratoire de Physiologie animale et cellulaire et du Laboratoire d'Embryologie. L'amitié qu'ils nous ont toujours témoignée s'est traduite par une aide importante notamment pour la réalisation de ce mémoire.

Nous remercions très vivement les techniciens de ces Laboratoires dont nous avons apprécié le concours amical et dévoué.

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
MATERIEL ET METHODES	
1. Dissociation de tissus embryonnaires	5
2. Association de tissu embryonnaires	6
3. Technique de "marquage biologique"	6
4. Culture <u>in vitro</u>	7
5. Greffes	8
6. Opérations <u>in ovo</u>	8
7. Techniques histologiques et histochimiques	9
8. Technique biochimique	10
PREMIERE PARTIE : DIFFERENCIATION MORPHOLOGIQUE ET CYTOLOGIQUE DE L'ADENOHYPOPHYSE <u>in situ</u> .	
A. <u>Données bibliographiques</u>	11
1. Formation de l'ébauche épithéliale	12
2. Phase de prolifération et de différenciation cellulaire	14
B. <u>Etudes personnelles</u> .	
1. Formation de l'ébauche épithéliale	18
2. Etude histologique de l'adénohypophyse au cours de la dernière semaine de l'incubation	18
3. Recherche des activités cholinestérasiques	21
DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE DE LA DIFFERENCIATION DE L'ADENOHYPOPHYSE.	
A. <u>Données bibliographiques</u> .	
I. <u>Morphogenèse et cytogenèse</u>	
1. Etude d'embryons anormaux	27
2. Etudes expérimentales effectuées chez les Mammifères	28

3. Etudes expérimentales effectuées chez les Batraciens	28
4. Etudes expérimentales effectuées chez l'embryon de Poulet	31
II. <u>Physiologie de l'adénohypophyse embryonnaire.</u>	
1. chez les Batraciens	37
2. Chez les Mammifères	39
3. Chez les Oiseaux	40
B. <u>Expériences préliminaires</u>	49
C. <u>Rôle initiateur du plancher encéphalique: l'induction de l'ébauche épithéliale.</u>	
I. <u>Evolution de l'ébauche adénohypophysaire en l'absence de tissu nerveux.</u>	
1. Ebauche prélevée chez des embryons de 17 à 24 somites	53
2. Ebauche présomptive prélevée chez des embryons de 12 à 17 somites	54
II. <u>Evolution de l'ébauche adénohypophysaire en présence de tissu nerveux.</u>	
1. Ebauche maintenue au contact du plancher prosencéphalique ...	55
2. Ebauche isolée puis réassociée au plancher prosencéphalique ..	55
3. Ebauche associée au plancher diencephalique prélevé chez des embryons âgés de 3 ou 4 jours	57
4. Ebauche associée à du tissu nerveux autre que le plancher prosencéphalique ou diencephalique	58
D. <u>Caractère autonome de la différenciation adénohypophysaire</u>	
I. <u>Evolution de l'ébauche adénohypophysaire en fonction du stade de son prélèvement</u>	
	60

II. <u>Evolution de l'ébauche adénohypophysaire associée à</u>	
<u>des mésenchymes hétérologues.</u>	
1. Evolution de l'ébauche adénohypophysaire associée	
à des mésenchymes axiaux	61
2. Evolution de l'ébauche adénohypophysaire associée	
à du mésenchyme de membre	63
3. Evolution de l'ébauche adénohypophysaire associée	
à des mésenchymes ventraux	65
4. Evolution de l'ébauche adénohypophysaire associée	
au mésenchyme chorio-allantoïdien	68
III. <u>Evolution de territoires épithéliaux voisins de l'ébauche</u>	
<u>adénohypophysaire au contact de mésenchymes hétérologues</u>	72
1. Evolution de fragments d'ectoderme et d'endoderme	
contigus à l'ébauche adénohypophysaire	74
2. Evolution du canal stomodaeo-hypophysaire	75
IV. <u>Evolution de la poche de Rathke et de la poche de Seessel</u>	
<u>isolées l'une de l'autre</u>	76
1. Prélèvement et séparation de la poche de Seessel et de	
la poche de Rathke	77
2. Evolution de la poche de Seessel isolée	78
3. Evolution de la poche de Rathke isolée	80
4. Evolution de l'ébauche adénohypophysaire isolée le 6e jour	
de l'incubation et associée à du mésenchyme de gésier	81
V. <u>Evolution en greffe coelomique ou chorio-allantoïdienne des</u>	
<u>segments céphalique et caudal de la poche de Rathke</u>	82
1. Evolution des explants constitués par des associations	
hétérospécifiques	86

2. Evolution des explants comportant plusieurs segments céphaliques ou plusieurs segments caudaux	88
E. <u>Limites de l'indépendance de la différenciation de l'adénohypophyse vis-à-vis de l'hypothalamus</u>	90
I. <u>Evolution de l'ébauche adénohypophysaire greffée chez des embryons de poulet privés d'hypothalamus</u>	91
II. <u>Différenciation fonctionnelle du tissu adénohypophysaire formé en greffe chorio-allantoïdienne et en greffe coelomique</u>	
1. Influence exercée par le tissu adénohypophysaire, différencié en greffe chorio-allantoïdienne, sur la survie et le poids corporel des embryons décapités	92
2. Activité thyroïdienne manifestée par le tissu adénohypo- physaire différencié en greffe	97
3. Influence du tissu adénohypophysaire différencié en greffe chorio-allantoïdienne sur la surrenale des embryons décapités	102
III. <u>Evolution du tissu adénohypophysaire au cours de greffes successives</u>	
1. Evolution du tissu adénohypophysaire différencié en greffe chorio-allantoïdienne	106
2. Evolution du tissu adénohypophysaire différencié <u>in situ</u>	107
DISCUSSION GENERALE ET CONCLUSION	
I. <u>L'induction</u>	110
II. <u>La différenciation de l'adénohypophyse après le stade de l'induction</u>	122
III. <u>La différenciation cytologique et fonctionnelle de l'adénohypophyse et les rapports hypothalamo-hypophysaires</u>	138
RESUME	154
BIBLIOGRAPHIE	158

INTRODUCTION

La différenciation de l'adénohypophyse a fait l'objet de nombreuses études descriptives dans toutes les classes de Vertébrés et particulièrement chez les Oiseaux. Dans le cas de l'embryon de poulet, les travaux sur la différenciation de l'adénohypophyse in situ ont abouti à des résultats généralement concordants en ce qui concerne l'origine et l'évolution morphologique de cette glande. Par contre, des différences persistent entre les résultats des auteurs quant à la différenciation des types cellulaires. Les études expérimentales, nombreuses chez les Batraciens, sont relativement rares chez les Oiseaux. Il s'agit, le plus souvent, de travaux effectués à une époque à laquelle la cytologie adénohypophysaire n'était pas établie avec précision et les critères de différenciation se limitaient donc à l'aspect histologique général. Il est évident que l'étude de la formation des diverses catégories cellulaires est d'une importance essentielle pour la compréhension de la différenciation de l'adénohypophyse et de l'établissement de ses fonctions physiologiques.

Le problème très général des interactions cellulaires revêt dans le cas de l'adénohypophyse un intérêt particulier: en effet, l'ébauche se forme au contact du mésenchyme de la plaque préchordale, région au niveau de laquelle les feuillets embryonnaires s'isolent tardivement et d'autre part elle contracte des rapports étroits avec la chorde dorsale, la poche de Seessel et l'ébauche infundibulaire, rapports qui, dans ce dernier cas, préfigurent une association fonctionnelle dont on sait l'importance chez l'adulte. Les contacts qui s'établissent

entre l'ébauche épithéliale de l'adénohypophyse et les tissus voisins ont suggéré différentes théories. A cet égard, les travaux de STEIN (1929, 1933) et de HILLEMANN (1943) ont montré que le tissu nerveux intervient dans la formation de cette ébauche. Par contre, le rôle éventuel du tissu nerveux dans l'évolution de l'ébauche adénohypophysaire morphologiquement apparente, n'est pas connu, bien que l'absence de pars intermedia chez les Oiseaux ait attiré l'attention des auteurs sur les contacts existant entre les ébauches nerveuse et épithéliale de l'hypophyse. Cette dernière n'a, en effet, jamais été séparée de tous les tissus voisins, notamment du mésenchyme et du plancher encéphalique. La possibilité d'isoler l'épithélium adénohypophysaire présomptif par action de la trypsine et d'en étudier l'évolution en greffe dans des conditions définies, jointe à la possibilité de vérifier l'état de différenciation du tissu formé grâce à des techniques de coloration et à des techniques histochimiques adaptées à l'adénohypophyse, nous a incité à tenter de définir le rôle des interactions tissulaires dans le développement adénohypophysaire. Les interactions épithélio-mésenchymateuses, dont l'importance a été mise en évidence dans la différenciation d'ébauches variées, ont notamment retenu notre attention. Le problème du rôle des interactions tissulaires, purement embryologique, nous a conduit, par l'intermédiaire de l'étude de la différenciation des types cellulaires, à un autre problème d'ordre physiologique, qui est celui des relations hypothalamo-hypophysaires. La question est, en effet, de savoir si la différenciation des types cellulaires de l'adénohypophyse embryonnaire est la conséquence d'une induction précoce et limitée dans le temps, exercée par le tissu nerveux, ou si cette influence doit s'exercer jusqu'à un stade avancé du développement embryonnaire pour être ensuite suppléée par l'établissement des relations hypothalamo-hypophysaires qui pourrait être concomitant de la mise en place du système porte. Dans l'hypothèse d'une induction précoce le problème se pose de définir quelles sont les conditions qui permettent aux potentialités de l'ébauche adénohypophysaire de se manifester et quels sont notamment les rôles du mésenchyme et de la vascularisation. GRIGNON (1957) écrit à ce sujet: "On peut se demander si la différenciation cellulaire se manifeste grâce à des condi-

tions de vascularisation favorables et si elle est libre de toute influence de l'hypothalamus".

La mise en cause du rôle de "chef d'orchestre" de l'hypophyse pour faire place à celui d'un "véritable complexe hypothalamo-hypophysaire" (BENOIT et ASSENMACHER, 1955) a conduit les chercheurs à effectuer à partir de 1950, chez les Oiseaux et les Mammifères adultes, des expériences de déconnexion hypothalamo-hypophysaire, de lésions de certaines aires hypothalamiques, de greffes et de culture d'adénohypophyse. Ces différentes techniques ont permis de définir la nature des relations hypothalamo-hypophysaires et en ont démontré l'importance sur le plan de l'histophysiologie adénohypophysaire.

De nombreuses expériences d'hypophysectomie ont été pratiquées chez l'embryon d'Oiseau à la suite de WOLFF et KANTOR (1937) et de FUGO et WITSCHI (1938), ainsi que chez le fœtus de Mammifère à la suite de JOST (1947) et de RAYNAUD et FRILLEY (1947a). Elles ont complété celles plus anciennes concernant les Batraciens, faites à la suite de SMITH (1916) et contribué, de façon importante, à faire la lumière sur les relations existant entre l'adénohypophyse et les glandes endocrines effectrices.

Chez l'embryon de poulet, des expériences de culture in vitro (MOSZKOWSKA, 1956; TIXIER-VIDAL, 1955, 1956 a et b, 1957 a et b, 1958), de greffe (STUDITSKII, 1946; TIXIER-VIDAL, 1958) ou de greffes associées à l'hypophysectomie (BETZ, 1967, 1968; BRASCH et BETZ, 1971) ont permis d'aborder la question des relations hypothalamo-hypophysaires. Ces techniques sont, avec la dissociation de l'ébauche adénohypophysaire, à la base de notre travail.

Les données actuelles concernant l'adénohypophyse de l'embryon de poulet sont de plusieurs ordres. On peut toutefois les inclure dans deux rubriques:

- La différenciation morphologique et cytologique de l'adénohypophyse in situ.
- L'étude expérimentale de la différenciation de l'adénohypophyse sur les différents plans de la morphogenèse, de la cytogenèse et de la physiologie.

Ce schéma a été adopté pour exposer les données bibliographiques, ainsi que nos résultats qui ont, pour certains d'entre eux, fait l'objet de publications préliminaires:

N. LE DOUARIN, FERRAND et G. LE DOUARIN (1967 a et b);
G. LE DOUARIN et FERRAND (1968); FERRAND et NANOT (1968), FERRAND (1969 a, b et c, 1970 a et b, 1971 a, b et c); FERRAND et G. LE DOUARIN (1971).

MATERIEL ET METHODES

Nos expériences ont été effectuées essentiellement sur l'embryon de poulet (Gallus gallus) de race Arbor Acres, race voisine de la Leghorn blanche. Les oeufs proviennent d'un même élevage commercial. Nous avons également eu recours à des embryons de caille japonaise (Coturnix coturnix japonica), les oeufs nous ont été fournis par le Docteur BOSIGER, ils proviennent de l'élevage du Laboratoire de Génétique Evolutive du C. N. R. S. (Gif-sur-Yvette).

Les incubations ont été effectuées dans des incubateurs électriques, à ventilation naturelle, réglés à 38°C.

Les techniques suivantes ont été utilisées: dissociation et association de tissus embryonnaires, marquage biologique, culture in vitro, greffes coelomique et chorio-allantoïdienne, opérations in vivo, techniques histologiques, histo-chimiques et biochimiques.

1. - Dissociation de tissus embryonnaires.

L'ébauche épithéliale de l'adénohypophyse a été isolée chez des embryons à des stades échelonnés de 17 somites (stade 15 de HAMBURGER et HAMILTON, 1951) à 5 jours d'incubation (stade 26 de H. et H.). L'ébauche épithéliale comprend la poche de Rathke et la poche de Seessel dans la plupart de nos expériences; toutefois, dans quelques séries expérimentales, ces deux formations ont été isolées, nous le préciserons lorsque tel sera le cas.

La dissociation de l'ébauche a été effectuée après un séjour de la tête de l'embryon dans une solution de trypsine à 1 % dans du liquide de Tyrode sans calcium ni magnésium (A. MOSCONA, 1952 et A. MOSCONA et H. MOSCONA, 1952). Nous avons également séparé, par cette méthode, différents mésenchymes de tissus épithéliaux, avant d'associer ces mésenchymes à l'ébauche adénohypophysaire. La durée du séjour des différentes pièces dans la solution de trypsine varie selon les tissus et les stades du développement entre 30 et 50 minutes. Le traitement par la trypsine est effectué à la température de la glace fondante. La production de mucus par les cellules est ainsi limitée, ce qui favorise la dissociation. L'action de la trypsine est ensuite arrêtée par lavage dans un liquide composé pour deux tiers par du liquide de Tyrode et pour un tiers par du sérum de poulain.

La dissociation est effectuée à l'aide de microscalpels; elle ne présente pas de difficultés quand l'incubation dans la trypsine est convenablement réalisée. Pour favoriser la pénétration de la trypsine, dans le cas des embryons âgés de 3 à 5 jours, nous avons pratiqué l'énucléation des yeux et excisé la mâchoire inférieure. L'efficacité de cette méthode a été vérifiée par l'examen histologique.

2. - Association de tissus embryonnaires.

Différentes associations ont été effectuées in vitro. Les tissus utilisés ont été isolés, dans la plupart des cas, après action de la trypsine, qu'il s'agisse de tissu ectodermique, endodermique, nerveux ou mésenchymateux.

Nous avons également associé in vitro le tissu adénohypophysaire formé dans les greffons à des ébauches de thyroïdes prélevées au stade de 7 jours d'incubation. Les thyroïdes contralatérales ont été associées à un fragment de tissu cardiaque à titre de témoins. Le milieu utilisé est, dans ce cas, an hormonal.

3. - Technique de "marquage biologique".

Cette technique, décrite par N. LE DOUARIN et BARQ (1969), est basée sur le fait que la morphologie nucléaire du noyau de caille interphasique diffère de

celle du noyau de poulet par la présence d'un complexe nucléolaire volumineux et riche en ADN; cette particularité rend les cellules de caille facilement reconnaissables dans le cas d'associations interspécifiques. La technique originale implique la coloration nucléaire par la technique de Feulgen et Rossenbeck; toutefois, dans le cas de l'adénohypophyse, les noyaux des cellules de caille se distinguent facilement de ceux des cellules de poulet avec les techniques de coloration que nous avons utilisées.

4. - Culture in vitro.

Les associations entre tissus épithéliaux et mésenchymes ont été effectuées sur le milieu de WOLFF et HAFFEN (1952 a), enrichi en sérum et dont la composition est la suivante:

- Gélose à 1 % dans le liquide de Gey 7 gouttes
- Extrait embryonnaire dilué à 50% dans
du liquide de Tyrode 3 gouttes
- Sérum de poulain 3 gouttes
(pénicilline G en solution dans le Subtosan Spécia)

De la pénicilline est ajoutée au sérum de Poulain, de façon à ce que chaque milieu de culture en reçoive une quantité correspondant à 10 unités Oxford. La durée de culture sur ce milieu a varié de 20 à 24 heures.

Les greffons et les ébauches de thyroïde ont été associés sur un milieu de culture utilisé par TIXIER-VIDAL (1955, 1956, 1957, 1958) et qui dérive du milieu an hormonal de WOLFF et HAFFEN (1952 a). La composition de ce milieu est la suivante:

- Gélose à 1 % dans le liquide de Gey 9 gouttes
- Extrait d'embryon de poulet de 6 jours 6 gouttes
- Pénicilline (40 000 U.I./cm³) 1 goutte

La durée de culture sur ce milieu est de 48 heures.

Nous avons également, au cours d'expériences préliminaires, effectué des cultures d'ébauches adénohypophysaires isolées ou associées à du tissu nerveux, en l'absence de mésenchyme, dans le liquide de RINALDINI (1959), dont la composition est la suivante:

- Liquide de Tyrode 7 volumes
- Sérum de poulain 2 volumes
- Extrait embryonnaire 1 volume
- Pénicilline 10^4 U.I. pour 2,5 ml de milieu

Le mélange est réalisé dans un Erlenmeyer. Le milieu est ensuite réparti dans des boîtes de Pétri à raison de $2,5 \text{ cm}^3$ par boîte.

5. - Greffes.

Deux types de greffes ont été réalisés: des greffes coelomiques et des greffes chorio-allantoïdiennes.

La greffe coelomique consiste à introduire le greffon dans le coelome d'embryons âgés de 3 jours et demi; le greffon se développe ainsi sans liaison avec les tissus de l'embryon hôte. Les greffons sont recherchés et fixés après des temps variant de 7 à 17 jours; toutefois, dans la plupart des cas, la durée de la greffe a été de 14 jours.

Les greffes chorio-allantoïdiennes ont été effectuées selon la technique de WOLFF et LUTZ (1939) ; cette technique consiste à placer le greffon dans une fente pratiquée dans la chorio-allantoïde d'embryons âgés de 5 à 7 jours, au voisinage d'une ramification vasculaire. La durée de la greffe varie dans ce cas de 11 à 14 jours selon les séries expérimentales.

6. - Opérations in ovo.

Pour obtenir des embryons hypophysectomisés nous avons effectué des décapitations d'embryons à des stades compris entre 11 et 15 somites, selon une technique dérivée de celle de FUGO et WITSCHI (1938). La région antérieure de la

tête, comprenant le prosencéphale et la plus grande partie du mésencéphale, est excisée. Les embryons se développant à la suite de cette opération sont dépourvus d'hypophyse et d'hypothalamus.

7. - Techniques histologiques et histochimiques.

Toutes les pièces ont été fixées par le liquide de Bouin - Hollande sublimé; la durée de fixation a varié de 3 à 5 jours selon leur volume. La nature du fixateur, la durée de la fixation, le temps écoulé entre la mort et le prélèvement de l'adénohypophyse sont autant de facteurs qui peuvent avoir des répercussions sur l'histologie adénohypophysaire (RACADOT, 1949). Les différentes pièces ont toujours été prélevées chez des embryons sacrifiés peu de temps avant la fixation. Les adénohypophyses ont été fixées in situ; en ce qui concerne les greffons, ils ont été fixés pour la plupart dans des délais très courts. Toutefois, dans le cas des greffons ayant évolué en greffe coelomique, des recherches ont parfois été plus prolongées, mais n'ont jamais excédé 5 minutes. Les coupes ont une épaisseur de 5 μ . Plusieurs techniques de coloration ont été utilisées. Certaines coupes ont été colorées par l'hématoxyline-éosine; mais dans la plupart des cas l'étude histologique de l'adénohypophyse ayant évolué in situ et celle du tissu adénohypophysaire différencié dans les greffons ont été effectuées après coloration par le tétrachrome selon HERLANT (1960) ou après traitement par l'acide periodique Schiff (APS). Le traitement par l'APS a également été utilisé en association avec la coloration par le bleu alcian ou par l'orange G (HERLANT, 1960). Le bleu alcian a été utilisé en solution à 0,5 % et à pH 0,2 ou à pH 3. Nous avons, dans la plupart des cas, coloré simultanément des coupes d'adénohypophyse normale et des coupes de greffons.

Des activités cholinestérasiques ont été recherchées dans l'adénohypophyse d'embryons prélevés à divers stades, du 5e jour de l'incubation à l'éclosion et chez des poussins âgés de 10 et 15 jours.

Ces activités ont également été étudiées dans le tissu adénohypophysaire formé en greffe chorio-allantoïdienne. La méthode utilisée est celle de KOELLE et

et FRIEDENWALD (1949), modifiée par GEREBTZOFF (1953). Les pièces ont été fixées par le formol calcium de Baker pendant 2 heures; après inclusion, elles sont coupées au kryostat à 20 ou 24 μ d'épaisseur et post-fixées au formol neutre. Deux substrats ont été utilisés, l'iodure d'acétylthiocholine et l'iodure de butyrylthiocholine. L'incubation des coupes a été effectuée pendant 2 heures à 37°C, le pH étant de 6,2. Certaines coupes ont, par ailleurs, été incubées soit en l'absence de substrat, soit en présence d'ésérine à la concentration de 10^{-5} M qui inhibe toutes les activités cholinestérasiques, soit encore après traitement par le diisopropylfluorophosphate (DFP). Le DFP à la concentration de 10^{-6} M inhibe les activités cholinestérasiques non spécifiques en laissant persister l'activité acétylcholinestérasique (PEARSE, 1960).

Afin de rechercher si le tissu adénohypophysaire différencié en greffe chorio-allantoïdienne chez des embryons décapités exerçait une influence sur la glande surrénale, nous avons étudié cette glande chez les différents embryons (témoins, décapités, décapités et greffés). Deux techniques ont été utilisées: la mise en évidence des lipides par le noir Soudan B et celle du tissu chromaffine par la réaction de HILLARP et HÖKFELT (1955).

8. - Technique biochimique.

L'étude de la glande surrénale a été complétée, pour chacune des trois catégories d'embryons, par le dosage de l'acide ascorbique. La méthode utilisée est celle de ROE et KUETHER (1942), modifiée par SCHAFFERT et KINGSLEY (1955). La nécessité de doser l'acide ascorbique à partir d'une quantité de tissu suffisante nous a conduit à stocker les surrénales, prélevées à l'issue de chaque expérience, au congélateur. Nous nous sommes assurés, par une série de dosages effectués sur des surrénales d'embryons entiers, d'une part que la méthode était fiable et d'autre part que la conservation au congélateur des surrénales n'avait pas d'incidence sur les résultats obtenus.

Première partie

=====

DIFFERENCIATION MORPHOLOGIQUE ET

CYTOLOGIQUE DE L'ADENOHYPOPHYSE

IN SITU

A. - DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES.

=====

Depuis les travaux de RATHKE (1838) qui établirent la double origine de l'hypophyse, de nombreux auteurs ont étudié la différenciation de cette glande dans tous les groupes de Vertébrés. Dans le cas de l'embryon d'Oiseau, une synthèse de ces études, associée à un important travail original, a été publiée par WINGSTRAND (1951). 'Le développement du complexe hypothalamo-hypophysaire chez l'embryon de poulet' a par ailleurs fait l'objet d'une thèse présentée par GRIGNON (1956). Les controverses qui s'établirent après la publication des travaux de RATHKE (1838) au sujet de l'origine de l'hypophyse (REICHERT, 1840; DURS, 1868) s'apaisèrent à la suite des travaux de MÜLLER (1871) et de MIHALKOVICS (1874), toutefois ALBRECHT en 1885 niait toujours l'existence de la poche de Rathke. Il convient de préciser d'ailleurs, que RATHKE lui-même devant la critique de ses travaux, avait admis s'être fourvoyé. Si la double origine de l'hypophyse, une partie provenant du plancher du tube nerveux et l'autre de l' "épithélium oral " a été établie par RATHKE (1838) et par MÜLLER (1871), c'est à MIHALKOVICS (1874, 1875) que l'on doit d'avoir montré que la poche de Rathke se forme en avant de la membrane pharyngienne et qu'elle est donc d'origine ectodermique.

La description par SEESSEL (1877) d'une deuxième poche qui se forme cette fois en arrière de la membrane pharyngienne et qui est donc endodermique, va déplacer le problème. La poche de Seessel contracte, en effet, des rapports étroits avec la poche de Rathke et, de ce fait, la question de sa participation à la formation de l'adénohypophyse se posait donc. Une participation endodermique à la genèse de l'adénohypophyse fut admise par KUPFER (1893) et SMITH (1914); par contre, ATWELL (1918, 1926), SCHWIND (1928), BRAHMS (1932), NELSON (1933) admettent l'origine purement ectodermique de l'adénohypophyse chez différents Vertébrés, les Mammifères notamment. Dans le cas des Oiseaux, les deux opinions ont été avancées; toutefois la majorité des auteurs ont admis l'origine unique, une participation éventuelle, mais très réduite, de l'endoderme par l'intermédiaire de la poche de Seessel ne pouvant pas être formellement exclue (WINGSTRAND, 1951; ASSENMACHER, 1952). Nous reviendrons ultérieurement sur cette question dans le cas des Oiseaux.

Nous distinguerons deux phases dans l'embryogenèse de l'adénohypophyse: la première phase correspond à la formation et à la mise en place de l'ébauche épithéliale, elle s'étend du 2e au 5e jour de l'incubation; la deuxième phase correspond à la prolifération des cellules de l'ébauche et à la différenciation cellulaire qui lui fait très rapidement suite; elle s'étend du 5e jour à la fin de l'incubation. Cette distinction de deux phases est arbitraire dans la mesure où la prolifération de l'ébauche commence en fait avant le 5e jour. Les divisions cellulaires sont, en effet, nombreuses au niveau de la poche de Rathke au cours de sa

mise en place. Toutefois ceci ne se manifeste que par un simple épaississement de la paroi épithéliale et ce n'est qu'à partir du 5e jour qu'on assiste à un véritable bourgeonnement de la poche de Rathke.

1.) Formation de l'ébauche épithéliale.

Chez l'embryon de poulet, la première indication morphologique de la poche de Rathke se situe selon les auteurs entre la 43e et la 48e heure d'incubation (VENZKE, 1942), c'est-à-dire à des stades voisins de 20 somites (stade 13 de HAMBURGER et HAMILTON). Pour ATWELL et SITLER (1918) et pour LILLIE (1930) c'est au stade de 20 somites que la poche de Rathke peut être reconnue.

Les processus décrits par la suite ont été étudiés chez différentes espèces et plus particulièrement chez les embryons de poulet: ATWELL et SITLER, 1918; PFEIFFER, 1925 a, b, c, De BEER, 1926; LILLIE, 1930; VOIGT, 1939; ATWELL, 1939; RAHN, 1938, 1939; WINGSTRAND, 1951; GRIGNON, 1956; DOSKOCIL, 1965, 1966, 1967 et de canard (PFEIFFER, 1925; De BEER, 1926; LUPS, 1929; FRIEDMAN, 1934; PAINTER, 1942; ASSENMACHER, 1952. Les études effectuées par ROST (1939) chez le Pigeon (Columbia livia domestica) et par WINGSTRAND (1951) sur l'embryon d'hirondelle de rivage (Riparia riparia) et de mouette rieuse (Larus ridibendus) montrent une grande homogénéité de l'évolution de la poche de Rathke dans le groupe des Oiseaux, seule la chronologie de cette évolution varie avec l'espèce étudiée.

La poche de Rathke se présente, à l'origine, comme une invagination ectodermique en doigt de gant qui se développe en avant de la membrane pharyngienne. Sa paroi dorsale adhère étroitement au plancher encéphalique. La poche de Seessel s'individualise quelques heures après la poche de Rathke à laquelle elle va s'accoler; les deux poches montrent un degré de développement comparable chez les embryons de 3 jours d'incubation. Les relations étroites contractées par ces deux formations et l'apparition d'un bourgeonnement de la poche de Seessel chez le Canard (PFEIFFER, 1925; LUPS, 1929; ASSENMACHER, 1952) et également chez le Poulet (SAINT-REMY, 1895; ECONOMO, 1899; BRUNI, 1914; ATWELL et SITLER, 1918) ont amené certains auteurs (PFEIFFER, LUPS) à admettre une participation de l'endoderme à la formation de l'adénohypophyse.

Au stade de 4 jours d'incubation la poche de Rathke et la poche de Seessel s'ouvrent sur une sorte de large vestibule ("Vestibulo pharingo-ipofisario" de BRUNI, 1914) qui les fait communiquer avec le stomodaeum. Par la suite, la poche de Seessel va s'éloigner de la poche de Rathke, elle persistera plus ou moins longtemps sous forme d'un petit bourgeon. A partir de ce stade, l'ébauche épithéliale ne comprend pratiquement plus que la poche de Rathke. Dès le 4e jour de l'incubation on peut distinguer dans cette ébauche deux parties: une partie antérieure dont la paroi commence à proliférer et à s'épaissir et une partie postérieure constituée par une vésicule à paroi encore mince. La partie antérieure donne naissance laté-

ralement à 2 bourgeons, les lobes latéraux qui sont à l'origine de la pars tuberalis, décrits par ROSSI (1896) et par ECONOMO (1899). L'évolution des lobes latéraux pour former la pars tuberalis a été étudiée par TILNEY (1913) et par ATWELL et SITLER (1918).

A partir du 5e jour de l'incubation la poche de Rathke est constituée par deux segments nettement distincts (WINGSTRAND, 1951; GRIGNON, 1956) : un segment antérieur relié au stomodaeum par un canal que nous qualifierons à la suite de GRIGNON de canal stomodaeo-hypophysaire ou de pédicule pharyngo-hypophysaire (ASSENMACHER, 1952) et un segment postérieur relié au précédent par une zone au niveau de laquelle la lumière est réduite. A ce stade, la poche de Rathke prolifère de façon très importante, le développement des deux segments est toutefois inégal, la prolifération, qui a débuté au niveau du segment antérieur, y demeure plus active que dans le segment caudal dont le volume sera de ce fait plus réduit pendant une partie du développement.

La poche de Rathke se forme immédiatement en avant de la plaque préchordale; il s'agit là d'une zone très particulière au niveau de laquelle les trois feuillets embryonnaires sont fusionnés jusqu'au stade de 10 somites (SPRATT, 1947), soit à un stade qui n'est pas très éloigné de l'apparition de l'ébauche adénohypophysaire. Le mésenchyme préchordal est un tissu caractérisé à la fois par sa structure dense au cours des stades que nous venons de décrire, et surtout par ses potentialités évolutives. Jusqu'au 4e jour de l'incubation, la poche de Rathke est étroitement associée au plancher du diencéphale, mais à partir de ce stade une lame de mésenchyme, le mésenchyme pio-hypophysaire (WISLOCKI, 1937; ASSENMACHER, 1952) se glisse d'avant en arrière entre la poche de Rathke et le diencéphale qui vont ainsi être séparés, cette séparation étant tout d'abord limitée au segment céphalique. L'ébauche épithéliale est entourée par le mésenchyme péri-hypophysaire dans lequel vont s'enfoncer les bourgeons épithéliaux issus des parois de la poche de Rathke.

Le fait que les trois feuillets soient longtemps fusionnés au niveau de la plaque préchordale a retenu l'attention des différents auteurs qui y ont vu une sorte de préfiguration des rapports étroits qui lient la poche de Rathke au tissu nerveux, à la poche de Seessel, au mésenchyme et à la chorde dorsale (FRIEDMAN, 1934; GILBERT, 1935).

Le contact étroit entre l'ectoderme de la poche de Rathke et le plancher du prosencéphale a été observé par tous les auteurs, que ce soit chez les Batraciens, les Oiseaux ou les Mammifères (MINOT, 1897; PARKER, 1917; KINGSBURY et ADELMAN, 1924; HOCHSTETTER, 1924; SCHWIND, 1928; BRAHMS, 1932; GILBERT, 1935; KERR, 1946). Les partisans d'une "théorie mécanique" pour expliquer la formation de la poche de Rathke ont très largement utilisé cet argument, ainsi d'ailleurs que celui constitué par les rapports existant entre la chorde et la poche de Rathke.

Chez l'embryon de poulet, la chorde n'est pas véritablement fixée à la poche de Rathke, mais une travée de cellules mésenchymateuses plus denses peut, dans certains cas, relier l'extrémité de la chorde à la poche de Rathke. Une telle disposition a été observée par GRIGNON (1956) et nous l'avons nous-mêmes retrouvée. Chez l'embryon de différents Oiseaux la même structure a été décrite; la chorde peut même entrer en contact avec la poche de Rathke, le cas se produit chez certains embryons de mouette étudiés par WINGSTRAND (1951), mais cet auteur précise que du tissu mésenchymateux sépare toujours la chorde des cellules épithéliales de la poche de Rathke.

Un contact étroit entre la paroi dorsale de la poche de Rathke et le plancher du prosencéphale, puis du diencéphale persiste jusqu'au 4e jour de l'incubation. A partir de ce stade, comme nous l'avons indiqué, une lame mésenchymateuse va séparer la poche de Rathke du tissu nerveux; elle progresse d'avant en arrière, mais respecte l'accolement du segment caudal à l'ébauche infundibulaire. Le moment de l'apparition de cette dernière a été situé, selon les auteurs, à des stades extrêmement variables: au stade de 7 jours d'incubation par ROMANOFF (1960), à 4 jours pour GRIGNON (1956) et dès le stade de 27 somites pour PATTEN (1958). Dans une étude consacrée à cette question, DOSKOCIL (1969) précise qu'une première évagination du plancher encéphalique se forme dès le 2e jour de l'incubation, un peu en arrière de l'extrémité de la poche de Rathke; cette évagination persiste jusqu'au stade de 5 jours d'incubation, elle va ensuite disparaître. C'est une nouvelle évagination, issue du plancher nerveux le 5e jour de l'incubation, qui serait la véritable ébauche infundibulaire qui va se ramifier pour former les lobules de la neurohypophyse vers le 8e jour de l'incubation.

Pour terminer cette description de la mise en place de l'ébauche adénohypophysaire, signalons que vers la fin du 5e jour de l'incubation, le segment postérieur de la poche de Rathke subit un début de flexion vers l'arrière qui, au cours des stades ultérieurs, va l'amener à faire un angle de 90° avec le segment céphalique.

2.) Phase de prolifération et de différenciation cellulaire.

Les bourgeons épithéliaux issus de la poche de Rathke vont proliférer et coloniser le mésenchyme environnant. Nous avons vu que le segment céphalique évoluait plus précocement que le segment caudal; la vascularisation qui se met en place dans le segment céphalique, dès le 5e jour de l'incubation, sera plus tardive dans le lobe caudal; quant à la différenciation des types cellulaires, elle sera limitée presque exclusivement à la région formée par le segment céphalique pendant la plus grande partie du développement embryonnaire. On peut considérer que, dès le 6e jour de l'incubation, l'ébauche hypophysaire n'est plus une simple poche, mais constitue une glande et nous utiliserons à partir de ce stade le terme d'adénohypophyse. Pour désigner les deux régions issues respectivement du

segment céphalique et du segment caudal, nous adopterons la terminologie en usage chez l'adulte (et même chez l'embryon), c'est-à-dire lobe céphalique et lobe caudal. Les modifications morphologiques qui interviennent sont essentiellement: la réduction progressive de la lumière qui persiste plus longtemps au niveau du lobe caudal, l'accentuation de la courbure du lobe caudal qui amène l'adénohypophyse dans un plan perpendiculaire à celui occupé par l'ébauche au stade de 4 jours d'incubation, l'établissement de la vascularisation et la disparition du canal stomodaeo-hypophysaire. La vascularisation de l'adénohypophyse se met en place le 9^e jour de l'incubation pour RAHN (1939) et le 10^e jour seulement pour PFEIFFER (1925c). Par contre, THOMMES et RUSSO (1959) voient la vascularisation s'établir dès le 7^e jour, son développement maximum étant atteint le 12^e jour de l'incubation. Ces auteurs soulignent que la différenciation des types cellulaires est étroitement associée chronologiquement à la vascularisation. En fait, les études très précises effectuées par ASSENMACHER (1952) chez l'embryon de canard et par GRIGNON (1956) chez l'embryon de poulet ont montré que l'établissement de la vascularisation est plus précoce: il est concomitant de la prolifération de la poche de Rathke. La vascularisation se met en place grâce au développement des bourgeons épithéliaux issus des parois de la poche de Rathke, qui s'enfoncent dans le mésenchyme péri-hypophysaire et englobent ainsi des vaisseaux sanguins. Pour ASSENMACHER (1952) et GRIGNON (1956) ces vaisseaux sont essentiellement des veinules pie-mériennes qui présentent, dès lors, trois parties: un segment proximal qui draine le réseau capillaire sous-infundibulaire et correspond au futur tronc porte, un segment moyen situé dans le parenchyme adénohypophysaire qui correspond aux capillaires sinusoides et un troisième segment, efférent, qui aboutit aux sinus caverneux et correspond à une veine capsulaire. La plupart des vaisseaux qui pénètrent la pars distalis sont donc des veines, il n'est pas possible, en effet, d'exclure totalement la pénétration avec le mésenchyme périhypophysaire, de capillaires artériels. GRIGNON (1956) déclare qu'il partage les doutes d'ASSENMACHER (1952) quand cet auteur écrit: "En face de certaines images des 9^e et 10^e jours de vaisseaux descendant du réseau capillaire sus-infundibulaire vers la pars distalis, il est en effet difficile de dire où se termine le capillaire et où commence la veinule".

Dans le cas de l'embryon de poulet, GRIGNON (1956, 1957) précise d'autre part que la vascularisation du lobe caudal est nettement retardée par rapport à celle du lobe céphalique, ce retard allant de pair avec le fait que la prolifération du lobe caudal est plus tardive et plus lente.

Pendant cette période, le canal stomodaeo-hypophysaire va régresser: sa lumière s'obture, puis il se fragmente en formant de petits massifs cellulaires ou des kystes qui marquent dans la plupart des embryons le point d'insertion du canal sur l'adénohypophyse. Près de l'autre extrémité du canal stomodaeo-hypophysaire, un petit diverticule plein représente le reliquat de la poche de Seessel. La présence de vésicules ou de kystes ciliés est fréquente dans l'adénohypophyse des Oiseaux adultes, elle a été signalée chez la Poule (COLLIN, 1926; VOIGT, 1939; OBOUSSIER, 1948; LEGAIT, 1957), le Pigeon (ROST, 1939) et de nombreuses

autres espèces; WINGSTRAND (1951) en a observé dans l'adénohypophyse de 77 espèces d'Oiseaux sur les 142 que compte sa collection. Ces structures, qui font donc partie de l'adénohypophyse, se rencontrent chez les embryons où elles revêtent différents aspects; elles semblent se former selon plusieurs processus, au cours de la réduction de la lumière de la poche de Rathke et de la régression du canal stomodaeo-hypophysaire notamment. Les lobes latéraux poursuivent leur développement en direction du diencéphale pour former la pars tuberalis; la pars neuralis se développe rapidement à partir du 8e jour et elle est alors séparée du lobe caudal de l'adénohypophyse par une lame mésenchymateuse.

Rappelons que la pars intermedia, qui existe chez la plupart des Vertébrés, fait défaut chez les Oiseaux. Les descriptions qui en ont été faites, étaient dans la plupart des cas, dues à des confusions avec la pars tuberalis (GENTES, 1907; HERRING, 1908, 1913; STENDELL, 1914; POKORNY, 1926). Par contre, De BEER, dès 1926, ne distingue pas de pars intermedia ni chez la Poule, ni chez le Canard; cette opinion n'est plus contestée, de nombreux arguments sont venus la confirmer (GRIGNON, 1956). Deux observations concernant d'une part l'embryon de poulet et d'autre part l'adulte doivent toutefois être rapportées. La pars intermedia se différencie à partir d'une zone de la poche de Rathke, qui reste en contact étroit avec l'ébauche du lobe nerveux. Une telle disposition existe chez l'embryon de poulet jusqu'au 10e jour de l'incubation; une partie du lobe caudal garde, en effet, jusqu'à ce stade, un contact avec le lobe nerveux et elle est constituée par une seule couche de cellules. Chez la Poule adulte, différents auteurs (RAHN, 1939; RAHN et PAINTER, 1941; PAYNE, 1942; WINGSTRAND, 1951; WILSON, 1952; E. LEGAIT et H. LEGAIT, 1955) ont signalé l'existence dans le lobe caudal de l'adénohypophyse, près du lobe nerveux, de cellules chromophobes, disposées en rangées parallèles. Cette structure particulière est toutefois inconstante et elle ne présente pas de caractères qui puissent la faire assimiler à une "pars intermedia".

La persistance, au cours du développement embryonnaire, de deux lobes adénohypophysaires morphologiquement distincts est liée, comme nous l'avons vu, à leur origine, mais surtout à la disposition des artères carotides internes et à l'anastomose intercarotidienne qui constituent une véritable sangle qui emprisonne l'adénohypophyse et contribue à la formation d'un sillon ventral et latéral limitant les deux lobes. Le sillon serait d'une importance secondaire s'il ne coïncidait pas au moins approximativement avec la répartition des types cellulaires. Il convient de souligner que les termes de lobe céphalique et de lobe caudal sont utilisés dans le cas d'espèces dont l'adénohypophyse ne présente pas une bipartition aussi nette que chez le Poulet; ces termes se réfèrent, en effet, à la localisation des types cellulaires, qui fait qu'il existe deux régions cytologiquement différentes. Cette particularité de l'adénohypophyse des Oiseaux, mise en évidence chez la Poule par RAHN (1939), a été confirmée par PAYNE (1942), WILSON (1949, 1952), WINGSTRAND (1951) et retrouvée chez de nombreuses espèces, notamment par RAHN et PAINTER (1941) et WINGSTRAND (1951). Les

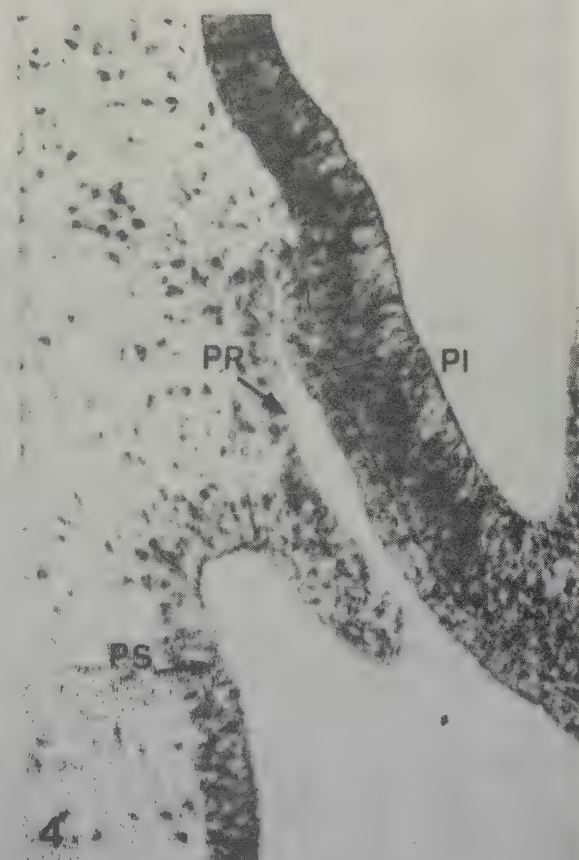
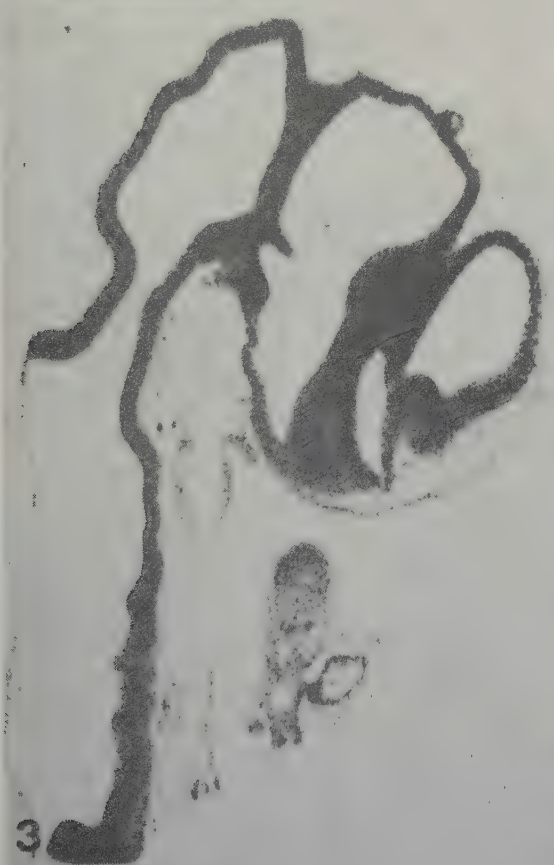
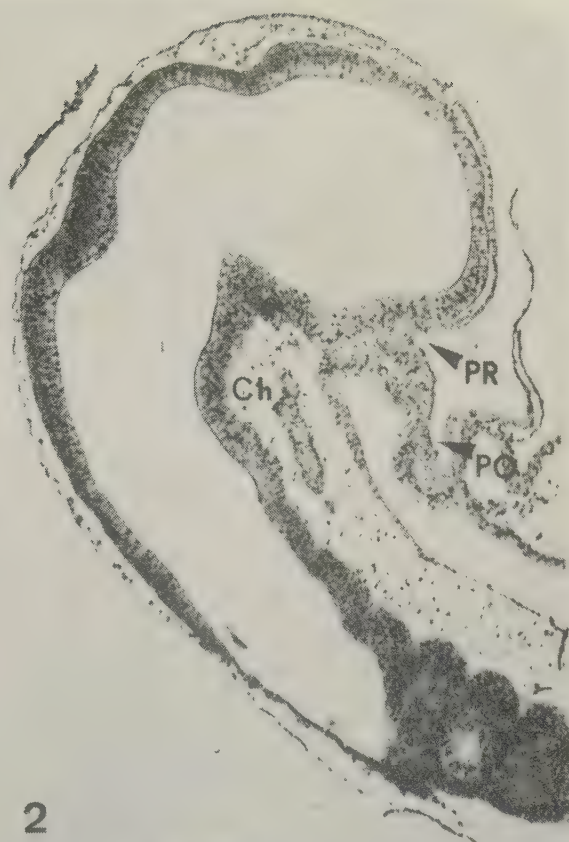
PLANCHE I
(Embryon de poulet)

- Fig. 1 - Partie antérieure de la tête d'un embryon de 17 somites. La poche de Rathke est apparente, elle est étroitement appliquée au plancher prosencéphalique. Le diverticule céphalique de l'intestin antérieur, qui va donner la poche de Seessel, n'adhère pas à la poche de Rathke. L'extrémité antérieure de la chorde est reliée à la poche de Rathke par une travée de cellules mésenchymateuses. Hématoxyline et éosine. G x 140.
- Fig. 2 - Tête d'un embryon au stade de 22 somites. La poche de Rathke et le diverticule céphalique de l'intestin antérieur sont presque jointifs. La plaque orale n'est pas encore percée. Hématoxyline et éosine. G x 80.
- Fig. 3 - Tête d'un embryon de 3 jours. La poche de Rathke et la poche de Seessel se présentent sous forme de deux diverticules contigus. A ce stade, la poche de Rathke est un peu plus développée que la poche de Seessel. Hématoxyline et éosine. G x 40.
- Fig. 4 - Détail de la figure 3 . Au stade de 3 jours d'incubation la poche de Rathke adhère étroitement au plancher encéphalique. Il n'y a pas de limite visible entre la poche de Rathke et l'ectoderme prosencéphalique. Les parois contigües de la poche de Rathke et de la poche de Seessel sont étroitement accolées. Hématoxyline et éosine. G x 240.

Ch : chorde ; IA : diverticule céphalique de l'intestin antérieur ;

Pl : plancher prosencéphalique ; PO : plaque orale ; PR : poche de Rathke ;

PS : poche de Seessel.



études récentes, qui ont permis de mettre en évidence six ou même sept types cellulaires, ont confirmé cette disposition particulière de l'adénohypophyse des Oiseaux, notamment chez le Canard (HERLANT et coll., 1960; TIXIER-VIDAL et coll., 1962; TIXIER-VIDAL, 1963), la Caille (TIXIER-VIDAL et coll., 1967, 1968) et chez Zonotrichia leucophrys gambelii (MATSUO et coll., 1969).

La différenciation des types cellulaires de l'adénohypophyse de l'embryon de poulet a fait l'objet de nombreux travaux RAHN (1939), VOIGT (1939), PAYNE (1942, 1946), WILSON (1949 a et b), WINGSTRAND (1951), ARONSSON (1952), TIXIER-VIDAL (1954, 1956, 1958), GRIGNON (1955, 1956, 1957), MOSIER (1955), PHILIPS (1962). Les techniques utilisées par ces auteurs sont diverses, toutefois la coloration des coupes par l'azan ou leur traitement par l'APS ont été le plus employés. Les résultats obtenus, même lorsque les techniques sont très voisines, sont souvent discordants non seulement en ce qui concerne la date d'apparition des types cellulaires, mais également dans quelques cas au sujet de leur localisation. Les différences relevées dans la chronologie de la différenciation des types cellulaires sont certainement imputables pour une part à l'utilisation d'embryons de races différentes et probablement aux conditions d'incubation. Par ailleurs, des différences dans les techniques, la nature et la durée de la fixation notamment, sont certainement à mettre en cause.

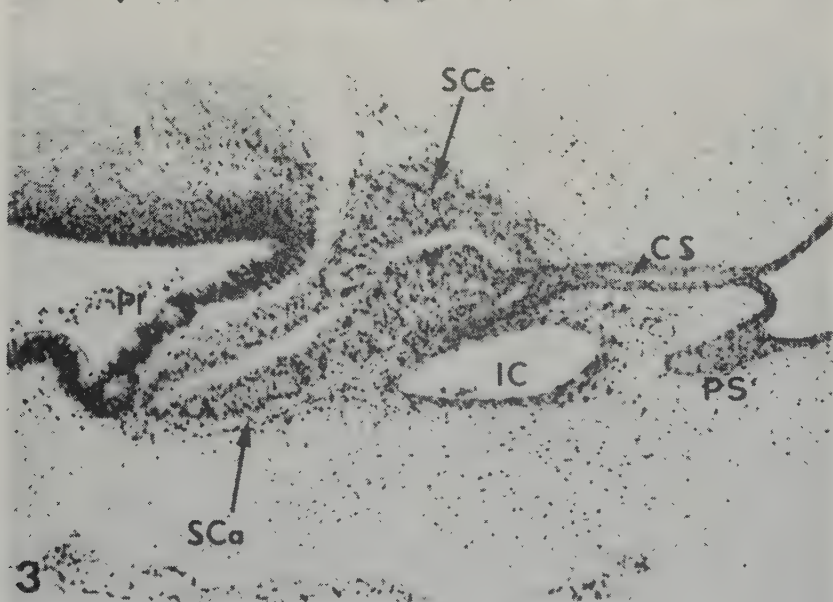
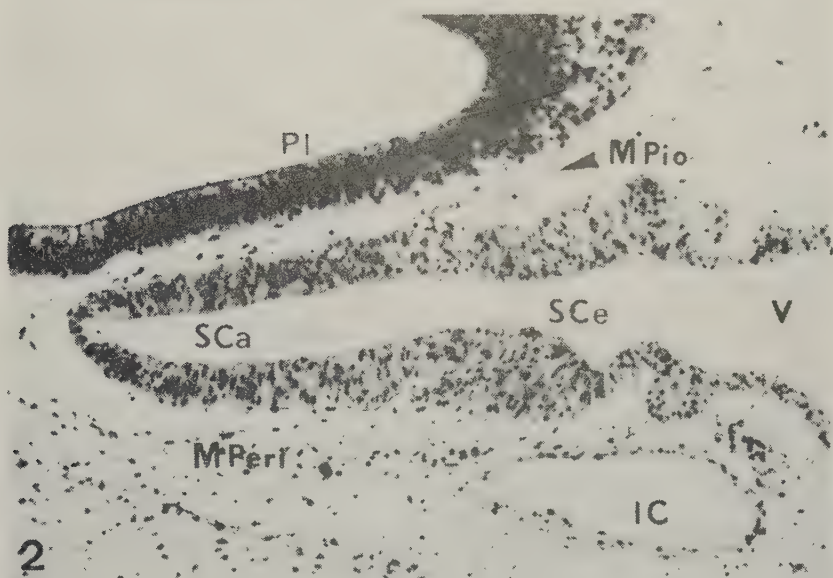
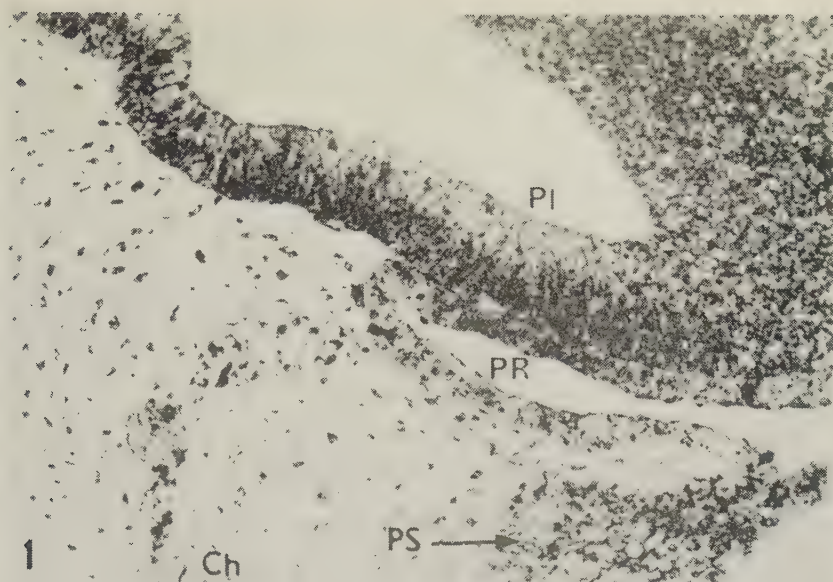
Chez l'embryon de poulet, des études précises de l'histologie adénohypophysaire ont été effectuées par WINGSTRAND, par GRIGNON et par TIXIER-VIDAL qui ont, d'autre part, analysé et comparé les résultats obtenus par les auteurs que nous avons cités. Nous nous bornerons donc à résumer brièvement ces résultats.

Les premiers types cellulaires apparaissent dans le lobe céphalique; pour GRIGNON (1956) ce sont des cellules acidophiles et des cellules APS positives; ARONSSON (1952) et PHILIPS (1962) ont également mis en évidence des cellules APS positives à ce stade. L'étude au microscope électronique (GRIGNON et coll., 1966) a confirmé l'existence, dès ce stade, de deux types de cellules qui diffèrent par la forme de leurs granulations. GRIGNON distingue des cellules cyanophiles dans le lobe céphalique le 8e jour de l'incubation et WINGSTRAND le 11e jour seulement. Ces cellules, apparues à l'extrémité antérieure du lobe céphalique, vont l'occuper progressivement. Entre le 12e et le 14e jour un deuxième type de cellules cyanophiles apparaît. "Situées d'abord et surtout au niveau du bord ventral du lobe antérieur ces cellules se distinguent des précédentes par leur coloration à la résorcine-fuchsine-azan. Elles s'étendent peu à peu dans le segment postérieur de la glande" selon GRIGNON (1957). Des cellules cyanophiles ont été également mises en évidence par WINGSTRAND dans le lobe caudal à partir du 15e jour, mais elles restent rares. Pour TIXIER-VIDAL (1954) les cellules acidophiles céphaliques ne peuvent être distinguées qu'entre le 11e et le 13e jour. Quant aux cellules cyanophiles, elles apparaissent à 15 jours et restent localisées dans le lobe céphalique. En ce qui concerne les cellules APS positives, TIXIER-VIDAL (1958) écrit: "Exceptionnellement, on peut rencontrer quelques petites cellules Mac Manus positives dans le lobe caudal, mais elles sont rarissimes". Un deuxième type de cellules acidophiles, de grande taille, possédant des grains orangeophiles apparaît dans la région antérieure du lobe caudal dès le 15e jour pour WINGSTRAND, le 18e jour pour GRIGNON et entre 19 et 21 jours pour TIXIER-VIDAL.

PLANCHE II
(Embryon de poulet)

- Fig. 1 - Poche de Rathke et poche de Seessel chez un embryon âgé de 3 jours. Coupe montrant la travée de cellules mésenchymateuses reliant la chorde à la poche de Rathke. Hématoxyline et éosine. G x 100.
- Fig. 2 - Poche de Rathke au stade de 5 jours d'incubation. On peut distinguer le segment céphalique et le segment caudal. La paroi de la poche de Rathke s'est épaissie. Des bourgeons se forment au niveau du segment céphalique. La poche de Seessel n'est pas apparente sur cette coupe. La lumière du segment céphalique communique largement avec la cavité buccale. Hématoxyline et éosine. G x 120.
- Fig. 3 - Ebauche adénohypophysaire au stade de 6 jours d'incubation. La paroi de la poche de Rathke a proliféré de façon importante. Le lobe céphalique est plus développé que le lobe caudal avec lequel il commence à former un angle qui atteindra progressivement 90°. La lumière est encore importante. Le canal stomodaeo-hypophysaire est bien individualisé. La poche de Seessel persiste sous forme d'un petit bourgeon situé au voisinage du canal stomodaeo-hypophysaire. Hématoxyline et éosine. G x 100.

Ch : chorde ; CS : canal stomodaeo-hypophysaire ; IC : anastomose inter-carotidienne ; M Péri : mésenchyme péri-hypophysaire ; M Pio : mésenchyme pio-hypophysaire ; Pl : plancher diencéphalique ; PR : poche de Rathke ; PS : poche de Seessel ; SCa : segment caudal ; SCe : segment céphalique ; V : vestibule faisant communiquer la poche de Rathke et la cavité buccale.



B. - ETUDES PERSONNELLES.

=====

Notre travail consistant d'une part à isoler l'ébauche adénohypophysaire au cours des jeunes stades du développement et d'autre part à comparer le tissu formé à partir de cette ébauche greffée dans le coelome ou la chorio-allantoïde, au tissu adénohypophysaire différencié in situ, des études précises ont été effectuées sur des embryons prélevés à des stades compris entre 12 somites et 6 jours d'incubation et sur des embryons prélevés du 14e jour à la fin de l'incubation. Nous avons également étudié des adénohypophyses prélevées chez des poussins de différents âges.

1.) Formation de l'ébauche épithéliale.

La poche de Rathke est morphologiquement indiquée au stade de 18 somites dans la plupart des embryons; elle peut toutefois être apparente dès le stade de 17 somites. L'évolution ultérieure s'effectue conformément au schéma que nous avons précédemment exposé (Planches I et II) ; cette évolution est un peu moins rapide que dans le cas des embryons étudiés par GRIGNON (1956), notamment en ce qui concerne la prolifération de l'ébauche.

Chez l'embryon de caille, la poche de Rathke évolue de façon comparable à celle du poulet. La durée d'incubation étant de 16 jours, la différenciation de l'ébauche est un peu plus rapide, mais la différence est peu sensible au cours des premiers stades (Planche III).

2.) Etude histologique de l'adénohypophyse au cours de la dernière

semaine de l'incubation.

a. - Coloration par le tétrachrome selon HERLANT.

Le tétrachrome permet d'obtenir une coloration comparable à celle qui

PLANCHE III
(Embryon de caille)

- Fig. 1 - Tête d'un embryon de caille au stade de 16 somites. La poche de Rathke n'est pas encore apparente. On reconnaît la chorde, le diverticule céphalique de l'intestin antérieur et la plaque orale. Hématoxyline et éosine. G x 100.
- Fig. 2 - Partie antérieure de la tête d'un embryon de caille de 21 somites. La poche de Rathke commence à se former (flèche). Une travée de cellules mésenchymateuses relie l'extrémité antérieure de la chorde au diverticule céphalique de l'intestin antérieur et à la poche de Rathke. Hématoxyline et éosine. G x 120.
- Fig. 3 - Partie antérieure de la tête d'un embryon de caille de 28 somites. La poche de Rathke s'est développée, sa paroi dorsale est appliquée au plancher prosencéphalique. Hématoxyline et éosine. G x 100.
- Fig. 4 - Détail de la figure 3. Une travée de cellules mésenchymateuses relie l'extrémité antérieure de la chorde à la poche de Rathke. Hématoxyline et éosine. G x 280.

Ch : chorde ; IA : diverticule de l'intestin antérieur ; Pl : plancher prosencéphalique ; PO : plaque orale ; PR : poche de Rathke ; PS : poche de Seessel.

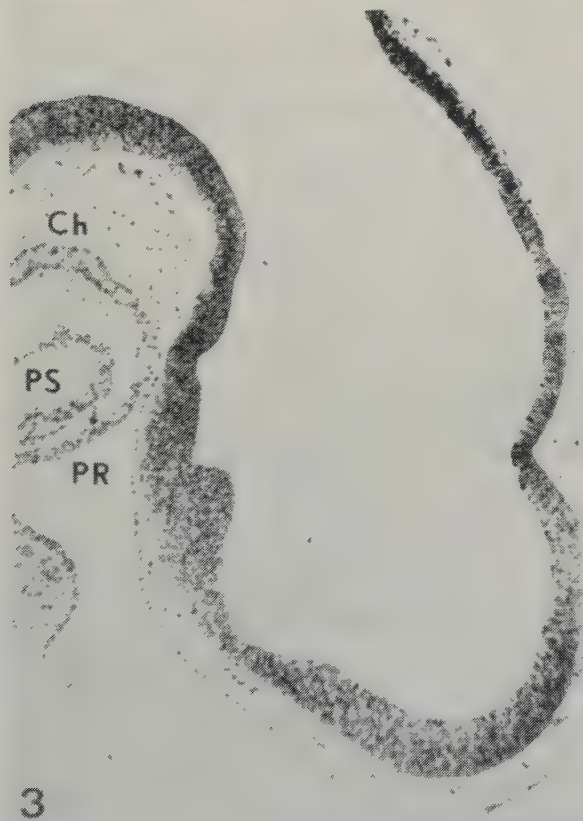


PLANCHE III

est obtenue avec l'azan; cette technique permet de distinguer des cellules acidophiles céphaliques qui présentent de fines granulations érythrophiles. Ces cellules existent le 14^e jour de l'incubation et leur nombre augmente progressivement, mais elles restent localisées au niveau du lobe céphalique (Planche IV). Elles correspondent aux cellules A2 décrites par RAHN (1939) et tous les autres auteurs. Des cellules cyanophiles sont également présentes dans le lobe céphalique (Planche IV, Fig. 1 et 2). Elles se colorent par le bleu d'aniline et présentent des différences dans leur taille et leur coloration; ces particularités ont amené plusieurs auteurs à les classer en différentes catégories. Les cellules chromophobes sont encore nombreuses le 15^e jour de l'incubation au niveau du lobe céphalique et elles occupent la totalité du lobe caudal. Un deuxième type de cellules acidophiles, caudales cette fois, a été mis en évidence à partir du 17^e jour. De grande taille, elles présentent des granulations orangeophiles plus grosses que celles des cellules acidophiles céphaliques. Ce sont les cellules A1 de RAHN (1939). Nos observations concernant leurs caractères et leur localisation concordent avec les études qui en ont été faites par la plupart des auteurs, notamment TIXIER-VIDAL et GRIGNON.

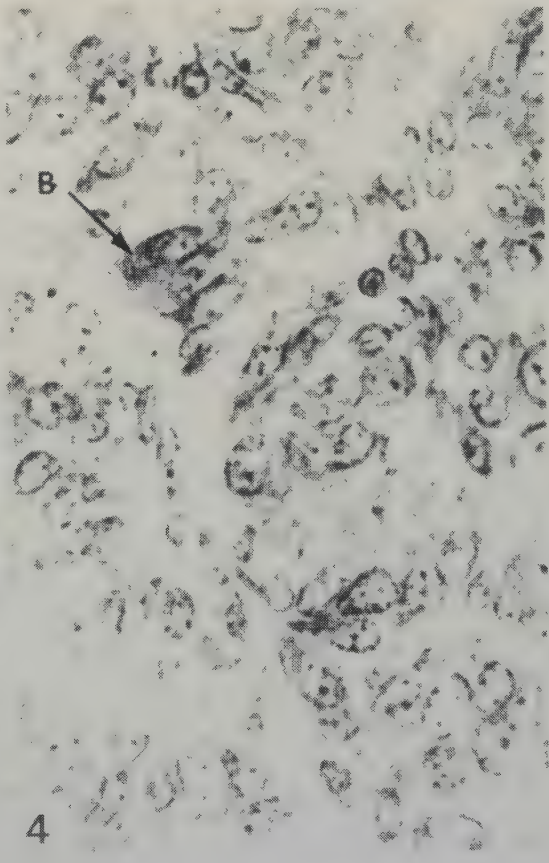
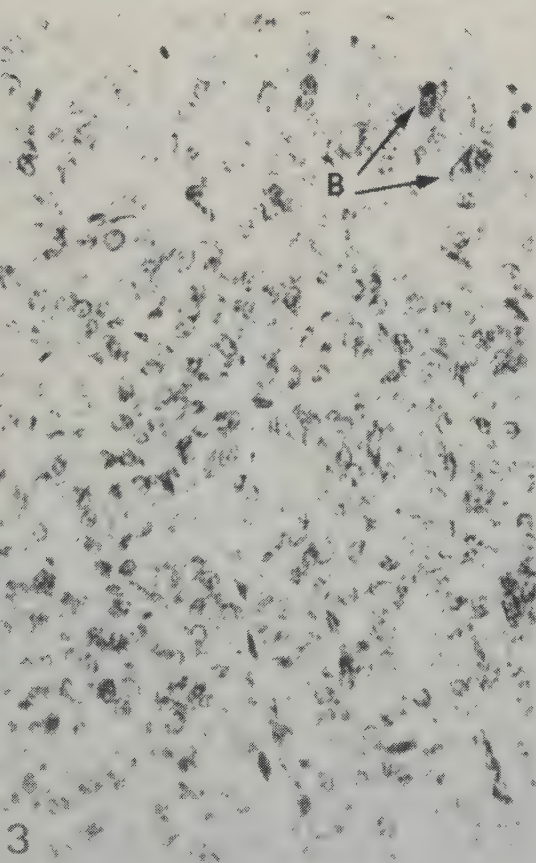
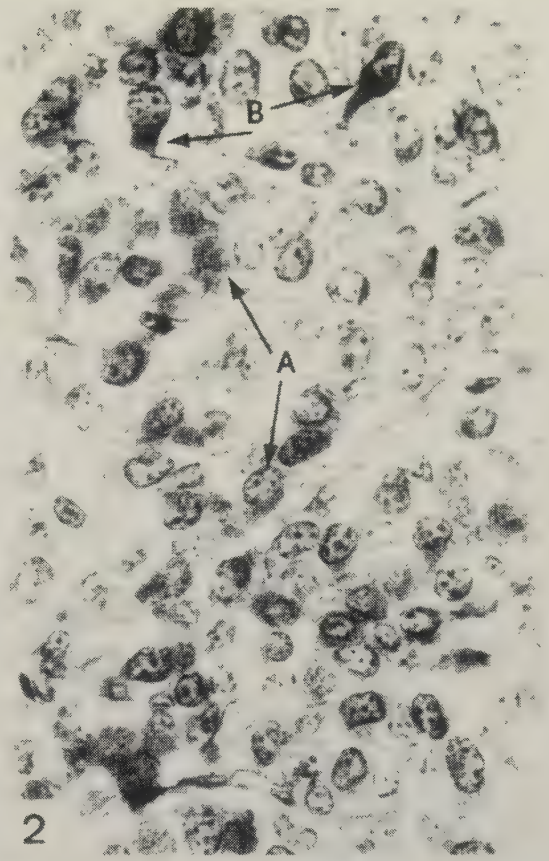
Les cellules cyanophiles sont très rares ou absentes du lobe caudal jusqu'au 17^e jour de l'incubation (Planche IV, Fig. 3 et 4). Au cours des derniers jours, quelques cellules cyanophiles ont été observées, mais elles demeurent rares et de petite taille. Il convient de remarquer que dès le 15^e jour de l'incubation des cellules cyanophiles existent dans une zone située en arrière du sillon occupé par l'anastomose intercarotidienne (Planche VII, Fig. 1 et 2), mais malgré leur situation, ces cellules semblent devoir être considérées comme céphaliques: en effet le lobe céphalique tend à envelopper le lobe caudal sur sa face ventrale. Cette disposition est liée au développement de l'ébauche et plus particulièrement à la flexion du segment caudal qui a lieu à partir du 5^e jour de l'incubation. Les études histologiques effectuées chez les Oiseaux adultes (Canard, Caille, Zonotrichia) que nous avons précédemment citées, sont particulièrement démonstratives à ce sujet. Nos observations chez l'embryon de poulet correspondent aux schémas de la localisation des types cellulaires donnés par TIXIER-VIDAL (1954).

PLANCHE IV
(Embryon de poulet)

Fig. 1 et 2 - Lobe céphalique de l'adénohypophyse d'un embryon de poulet de 20 jours colorée par le tétrachrome selon HERLANT. Les cellules chromophiles sont nombreuses. Les cellules acidophiles apparaissent en gris, les cellules cyanophiles en noir. Fig. 1, G x 240 ; Fig. 2, G x 1000.

Fig. 3 et 4 - Lobe caudal de l'adénohypophyse d'un embryon de poulet de 17 jours colorée par le tétrachrome selon HERLANT. La plupart des cellules sont chromophobes. Quelques rares cellules cyanophiles sont visibles près du bord ventral. Fig. 3, G x 300 ; Fig. 4, G x 1200.

A : cellules acidophiles ; B : cellules cyanophiles



Vers la fin de l'incubation (20e, 21e jours) les cellules acidophiles caudales sont plus nombreuses et elles manifestent une chromophilie accrue. Elles montrent une certaine affinité pour l'érythrosine et elles apparaissent parfois rouge-orangées; cet aspect préfigure les modifications de la cytologie adénohypophysaire qui font suite à l'éclosion. Ces changements affectent assez peu le lobe céphalique, seule la chromophilie des cellules acidophiles diminue, par contre au niveau du lobe caudal les cellules acidophiles A₁ se développent très rapidement et elles sont encore plus chromophiles. Des cellules cyanophiles se différencient, elles sont déjà nombreuses chez le poussin de 3 jours. Des observations comparables ont été effectuées par TIXIER-VIDAL (1954) qui toutefois situe les changements de chromophilie des cellules acidophiles caudales après l'éclosion.

b. - Traitement par l'APS utilisé seul ou associé au bleu alcian ou à l'orange G.

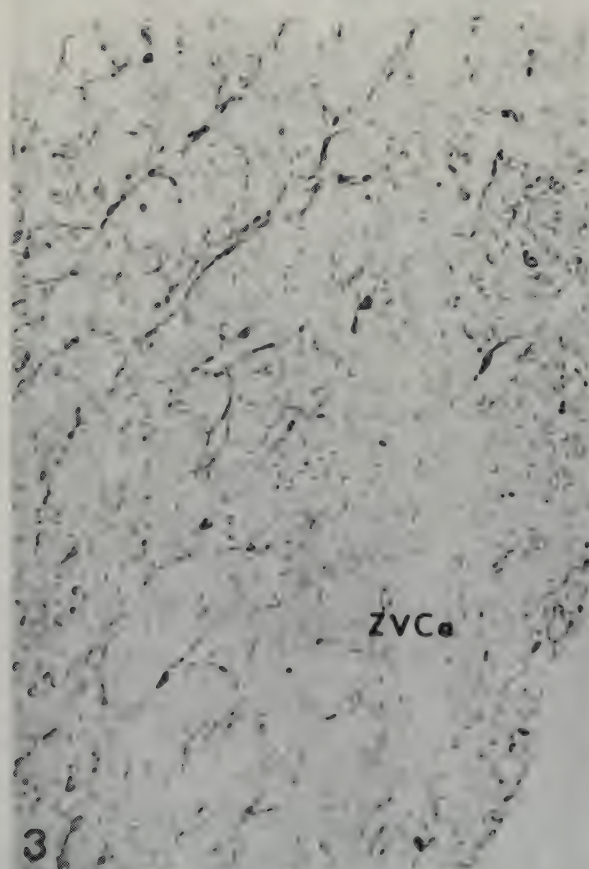
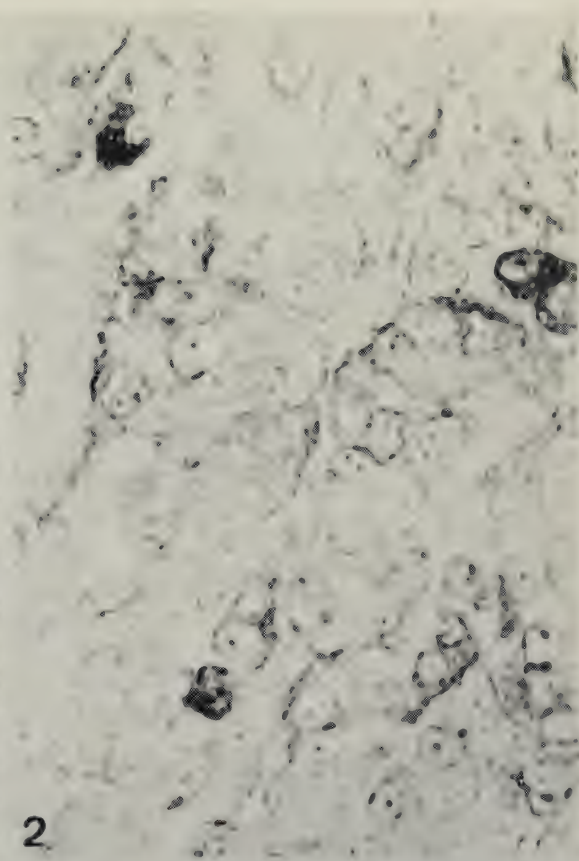
Des cellules APS positives ont été observées le 11e et le 13e jour de l'incubation. Elles présentent des granulations fines, sont encore peu nombreuses dans le lobe céphalique et totalement absentes dans le lobe caudal. A partir du 14e jour les cellules APS positives tendent à occuper tout le lobe céphalique (Planche V, Fig. 1 et 2), elles sont de différentes tailles et leur réaction à l'APS confère à certaines d'entre elles un aspect homogène. Les cellules de grande taille sont localisées dans la région antéro-ventrale du lobe céphalique, un peu en avant de la limite des deux lobes, elles peuvent également déborder cette limite, comme nous l'avons signalé dans le cas des cellules cyanophiles. Quelques cellules APS positives ont été observées dans le lobe caudal, mais elles sont très rares (Planche V, Fig. 3 et 4). Les mêmes observations ont été effectuées chez la Caille (Planche VI).

Lorsque le traitement par l'APS est précédé d'une coloration par le bleu alcian, il est possible de distinguer 3 catégories de cellules parmi celles qui réagissent à l'APS utilisé seul. Les unes se colorent en bleu foncé, ce sont essentiellement les grosses cellules localisées au niveau de la bordure ventrale du lobe

PLANCHE V
(Embryon de poulet)

- Fig. 1 - Lobe céphalique de l'adénohypophyse d'un embryon de poulet de 16 jours traitée par l'APS. Les cellules APS positives sont nombreuses plus particulièrement dans la zone ventrale. G x 240.
- Fig. 2 - Détail de la figure 1. Cellules APS positives différenciées dans la région moyenne du lobe céphalique. G x 1200.
- Fig. 3 - Lobe caudal de l'adénohypophyse d'un embryon de poulet de 16 jours traitée par l'APS. Les cellules APS positives sont rares ou totalement absentes à ce stade. G x 240.
- Fig. 4 - Détail de la région moyenne du lobe caudal de l'adénohypophyse d'un embryon de 16 jours. On ne distingue pas de cellules APS positives. G x 500.

ZVCa : zone ventrale du lobe caudal ; ZVCe : zone ventrale du lobe céphalique.



céphalique (Planche VII, Fig. 1 à 4); des cellules nombreuses, disséminées dans tout le lobe céphalique, réagissent seulement à l'APS: elles sont de taille variable, comme d'ailleurs la troisième catégorie de cellules qui, tout en réagissant à l'APS présentent une certaine affinité pour le bleu alcian. Il est difficile de tirer des conclusions de cette observation, mais il est vraisemblable que la 3e catégorie de cellules est une forme "de transition" vers l'un ou l'autre des premiers types cellulaires. Le bleu alcian a été utilisé en solution à 0,5 % et à pH 0,2 ou à pH 3 . Le problème de l'interprétation de l'affinité des différents types cellulaires pour les colorants utilisés et de leur signification fonctionnelle sera évoqué ultérieurement.

Le traitement par l'APS , suivi d'une coloration par l'orange G ne donne pas de très bons résultats en ce qui concerne l'adénohypophyse embryonnaire. L'affinité de certaines cellules APS positives pour l'orange G, telle qu'elle existe chez l'adulte, n'est pas très marquée chez l'embryon. Nous avons toutefois utilisé cette technique; elle nous a donné de bons résultats dans le cas du tissu adénohypophysaire différencié dans certains greffons.

3.) Recherche des activités cholinestérasiques.

Depuis les travaux de AMMON et SCHÜTTE (1934) et de NACHMANSOHN (1938, 1939), des activités cholinestérasiques ont été mises en évidence dans de nombreux tissus chez l'embryon et le fœtus. Les recherches qui ont porté plus particulièrement sur les tissus nerveux et musculaires visaient à déterminer les rapports éventuels entre les activités cholinestérasiques et les processus de différenciation et de mise en fonctionnement. Les études effectuées sur des stades précoces ont montré que les activités cholinestérasiques se manifestent très tôt au niveau des ébauches nerveuses présomptives et également dans le tissu musculaire, à des stades auxquels le système nerveux n'est pas encore mis en place (YOUNGSTROM, 1938; SAWYER, 1943 a et b; TAHMISIAN, 1943; BOELL et SHEN, 1944; CREPIN et G. LE DOUARIN, 1966; GYEVAI, 1969).

PLANCHE VI
(Embryon de caille)

- Fig. 1 - Lobe caudal de l'adénohypophyse d'un embryon de caille de 13 jours traitée par l'APS. La région moyenne de ce lobe est dépourvue de cellules APS positives à ce stade. G x 1200.
- Fig. 2 - Lobe céphalique de l'adénohypophyse d'un embryon de caille de 13 jours traitée par l'APS. Les cellules APS positives existent à ce stade mais leur réaction à l'APS n'est pas très marquée dans la partie moyenne de ce lobe. G x 1200.
- Fig. 3 - Lobe céphalique de l'adénohypophyse d'un embryon de caille de 16 jours traitée par l'APS. Les cellules APS positives sont réparties dans la totalité de ce lobe. La réaction à l'APS est toutefois particulièrement intense dans le cas des cellules situées dans la zone ventrale. G x 700.

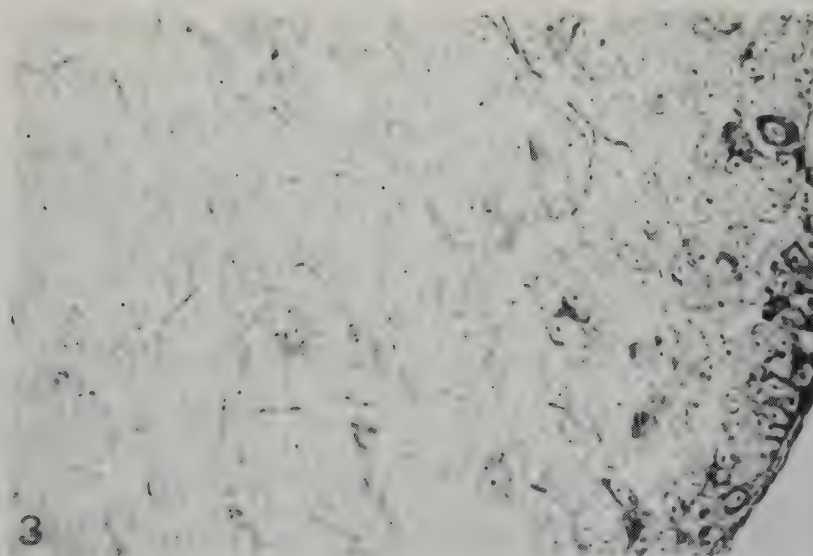
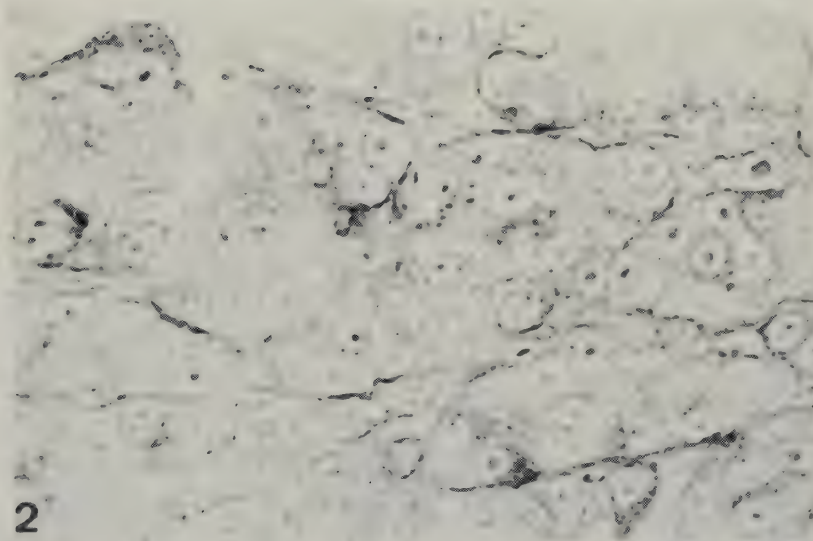
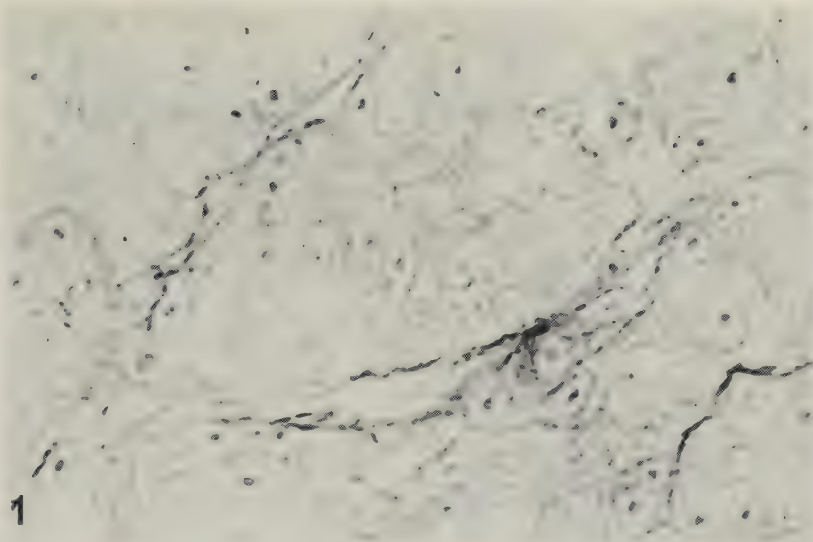


PLANCHE VI

C'est dès la 15e heure de l'incubation, que ZACKS (1954) met en évidence chez l'embryon de poulet, une activité acétylcholinestérasique dans la région du noeud de Hensen et de la ligne primitive; cette enzyme est présente avant que son substrat, l'acétylcholine, ne puisse être détecté. DREWS et coll. (1967), USADEL et coll. (1967) ont montré la présence d'activités cholinestérasiques dans le blastoderme d'oeufs non incubés; pour ces auteurs cette activité enzymatique est liée aux mouvements morphogénétiques. DREWS et coll. (1969) ont également mis en évidence des activités cholinestérasiques, dès le 2e jour de l'incubation, au niveau des cellules présomptives des îlots de Langerhans, cette activité disparaît en partie le 5e jour de l'incubation et n'est plus décelable le 6e jour.

Les études des activités enzymatiques, cholinestérasiques notamment, qui se manifestent au niveau du complexe hypothalamo-hypophysaire ont été, pour la plupart, entreprises dans le but de déceler leur rôle éventuel dans les relations hypothalamo-hypophysaires.

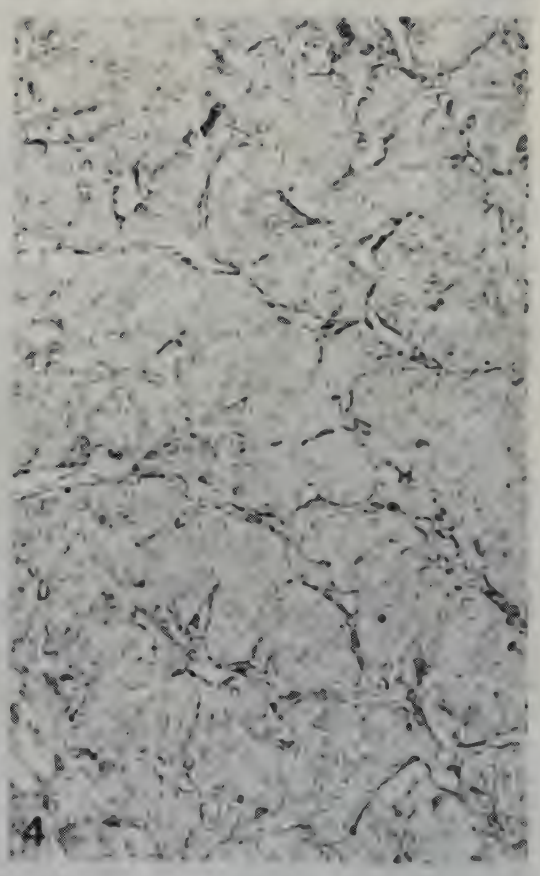
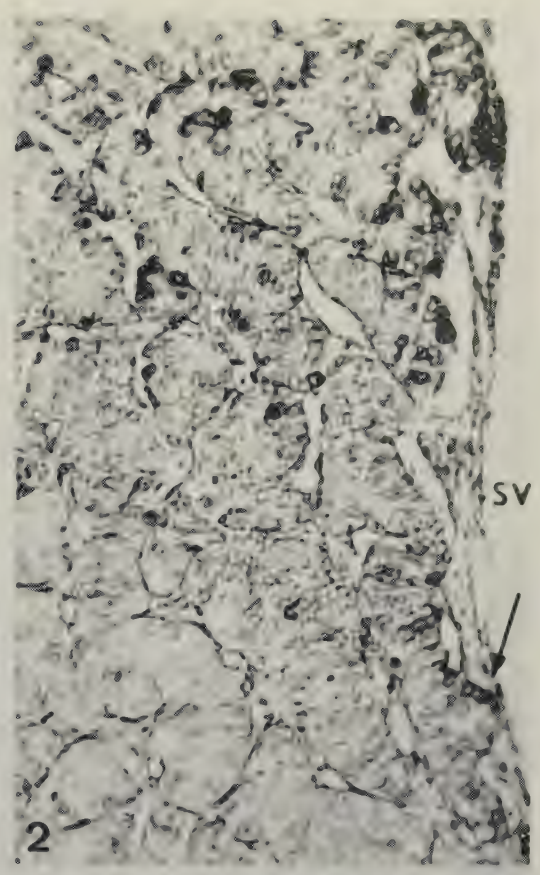
Des activités estérasiques diverses ont été mises en évidence dans l'adénohypophyse. PEARSE (1956) a montré, dans le cas de l'adénohypophyse humaine, qu'il existait un certain parallélisme entre l'activité estérasique des cellules muqueuses et leur réactivité à l'APS. HERLANT et GRIGNON (1961) ont décelé des activités estérasiques dans l'adénohypophyse de Testudo mauritanica; ces activités sont particulièrement importantes dans les cellules alpha et les cellules gamma.

Chez les Mammifères, des activités acétylcholinestérasiques ou cholinestérasiques non spécifiques ont été mises en évidence dans l'adénohypophyse grâce à des méthodes biochimiques ou histochimiques par plusieurs auteurs: PASETTO (1951, 1952, 1958) chez le Boeuf, DUMONT (1956) chez le Lapin, ARVY (1963, 1964) chez le Verrat, le Boeuf et le Buffle, VANHA-PERTTULA (1966) chez le Rat. Par contre GEREBTZOFF (1959) détecte une activité cholinestérasique très faible et diffuse près des vaisseaux porte chez le Cobaye, KOELLE et GEESEY (1961) ne décèlent pas d'activité acétylcholinestérasique dans l'adénohypophyse du Chat.

PLANCHE VII
(Embryon de poulet)

- Fig. 1 - Adénohypophyse d'un embryon de 18 jours traitée par l'APS associé au bleu alcian. Les cellules qui ont réagi à l'APS ou au bleu alcian sont presque exclusivement localisées au niveau du lobe céphalique. Les cellules colorées par le bleu alcian sont surtout situées dans la région ventrale du lobe céphalique, les cellules APS positives sont disséminées dans l'ensemble de ce lobe. G x 120.
- Fig. 2 - Détail de la figure précédente montrant la zone de contact entre les lobes céphalique et caudal. On peut voir que le lobe céphalique recouvre la partie antéro-ventrale du lobe caudal ; quelques cellules bleu alcian positives sont en effet situées en arrière du sillon qui ne marque qu'approximativement la limite des 2 lobes (Flèche). G x 300.
- Fig. 3 - Détail de la région moyenne du lobe céphalique. Les cellules mises en évidence par l'APS (flèches courtes) et par le bleu alcian (flèches longues) sont souvent localisées à la périphérie des cordons cellulaires. G x 400.
- Fig. 4 - Détail de la région moyenne du lobe caudal qui se montre dépourvue de cellules APS ou bleu alcian positives. G x 240.

LCa : lobe caudal ; LCe : lobe céphalique ; SV : sillon ventral marquant approximativement la limite des 2 lobes.



Chez les Oiseaux, les travaux sont peu nombreux et se rapportent essentiellement à l'adulte de Zonotrichia leucophrys gambelii. Des méthodes histochimiques (KOBAYASHI et FARNER, 1964; HAASE et FARNER, 1969) et biochimiques (RUSSEL et FARNER, 1968; RUSSEL, 1968) ont montré l'existence d'activités cholinestérasiques et acétylcholinestérasiques. Des expériences de photostimulation ont permis à ces auteurs de constater, aussi bien sur le plan histochimique (HAASE et FARNER, 1969) que biochimique (RUSSEL et FARNER, 1968, RUSSEL, 1968) une augmentation très importante de l'activité AChE, dont le maximum coïncide avec celui de l'activité testiculaire. L'activité cholinestérasique spécifique semble donc devoir être rapportée aux cellules gonadotropes. UEMURA (1965) a également fourni quelques indications sur les activités cholinestérasiques existant dans l'adénohypophyse de différentes espèces d'Oiseaux, Passer montanus serratus notamment.

Etude des activités cholinestérasiques dans l'adénohypophyse de l'embryon de
poulet.

La recherche des activités cholinestérasiques a été effectuée selon la méthode de KOELLE et FRIEDENWALD (1949) modifiée par GEREBTZOFF (1953).

Nous avons utilisé des embryons âgés de 5, 6, 8, 10, 11, 15, 16, 18 et 21 jours, ainsi que des poussins de 10 et 15 jours. Dans le cas des embryons de 5 et 6 jours la tête entière de l'embryon, à l'exception de la mâchoire inférieure, a été fixée par le formol-calcium de Baker; nous avons prélevé l'hypophyse et la région hypothalamique des embryons de 8, 10 et 11 jours et l'hypophyse seule dans tous les autres cas. Les pièces ont été orientées lors de l'inclusion dans la glace de façon à ce que les coupes soient effectuées selon un plan parallèle au plan sagittal. Dans chaque série, quelques coupes ont été incubées en l'absence de substrat, les autres ont été incubées soit en présence d'iodure d'acétylthiocholine (Ac Th Ch), soit en présence d'iodure de butyrylthiocholine (Bu Th Ch). Certaines coupes ont, par ailleurs, été préalablement soumises à l'action du diisopropyl-fluorophosphate (DFP) à la concentration de 10^{-6} M ou incubées en présence du substrat et d'ésérine à la concentration de 10^{-5} M.

Dès le stade de 5 jours d'incubation, des activités cholinestérasiques ont été mises en évidence, encore faibles elles sont plus apparentes au niveau du segment céphalique de l'ébauche; à 6 jours (Pl. VIII, Fig. 1) l'activité est nette dans le lobe céphalique, elle est plus forte dans la partie périphérique du tissu au niveau de l'extrémité des bourgeons qui prolifèrent dans le mésenchyme périhypophysaire, plus particulièrement dans la région ventrale, près du canal stomodaeo-hypophysaire.

Aux stades de 8, 10 et 11 jours, l'activité cholinestérasique est plus forte dans le lobe céphalique qu'au niveau du lobe caudal, également dans sa partie antéro-ventrale (Pl. VIII Fig. 2, 3, 4). L'intensité de l'activité diffère peu quel que soit le substrat utilisé et aucune activité n'apparaît en l'absence de substrat. Les activités sont totalement inhibées par l'ésérine, il s'agit donc d'activités cholinestérasiques (VERNE, 1954; PEARSE, 1960); on sait que les autres activités estérasiques ne sont pas inhibées dans ces conditions (PEARSE, 1956, 1960). Un traitement préalable par le DFP à la concentration de 10^{-6} M provoque également une inhibition importante, ce qui montre qu'il s'agit surtout d'activités cholinestérasiques non spécifiques.

Au cours des stades ultérieurs (15, 16, 18, 21 jours) et chez les poussins de 10 et 15 jours l'activité augmente et la différence entre les 2 lobes s'accroît, elle est nettement plus importante au niveau du lobe céphalique que les coupes aient été incubées en présence d'Ac Th Ch ou de Bu Th Ch. (Planche IX)

Les images que nous observons vers la fin de l'incubation et chez le Poussin sont tout à fait comparables à celles données par KOBAYASHI et FARNER (1964); une activité très faible a été relevée dans la neurohypophyse, elle est par contre importante au niveau de la pars tuberalis.

L'incubation des coupes en présence d'ésérine entraîne la disparition de ces activités dans les 2 lobes; l'incubation préalable en présence de DFP les inhibe très fortement, il s'agit donc essentiellement d'activités cholinestérasiques non spécifiques. L'activité très faible qui persiste semble pouvoir être attribuée à la vascularisation. Il convient de remarquer toutefois que nous avons observé

PLANCHE VIII
(Embryon de poulet)

Fig. 1 - Coupe pratiquée dans la tête d'un embryon de poulet de 6 jours. A ce stade, l'ébauche adénohypophysaire montre une activité cholinestérasique plus forte à la périphérie du parenchyme et au niveau du lobe céphalique. Substrat : iodure d'acétylthiocholine. Coloration nucléaire par l'héματοxyline. G x 100.

Fig. 2 - Coupe de l'adénohypophyse d'un embryon de 11 jours incubée en présence d'iodure d'acétylthiocholine. L'activité est plus intense au niveau du bord antéro-ventral du lobe céphalique. La lumière du lobe caudal, bien que réduite, persiste à ce stade. Coloration nucléaire par l'héματοxyline. G x 100.

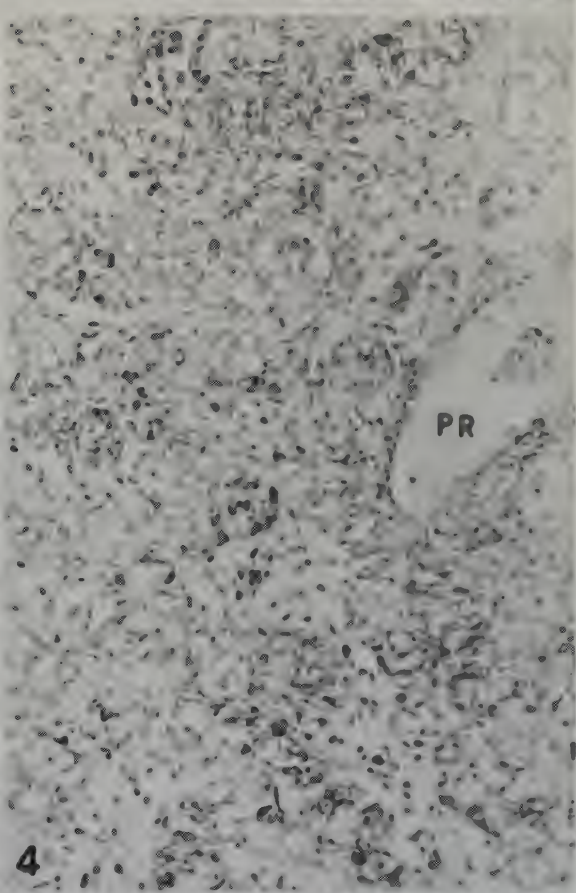
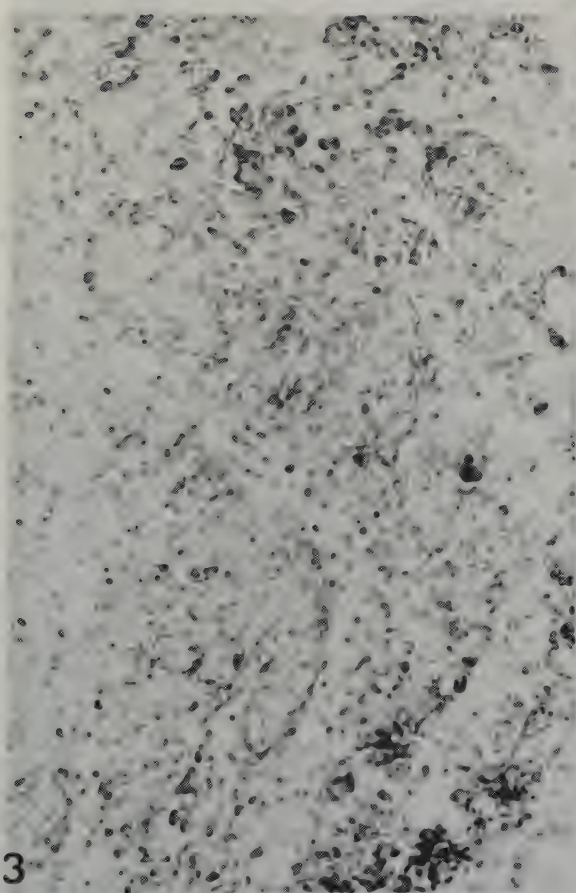
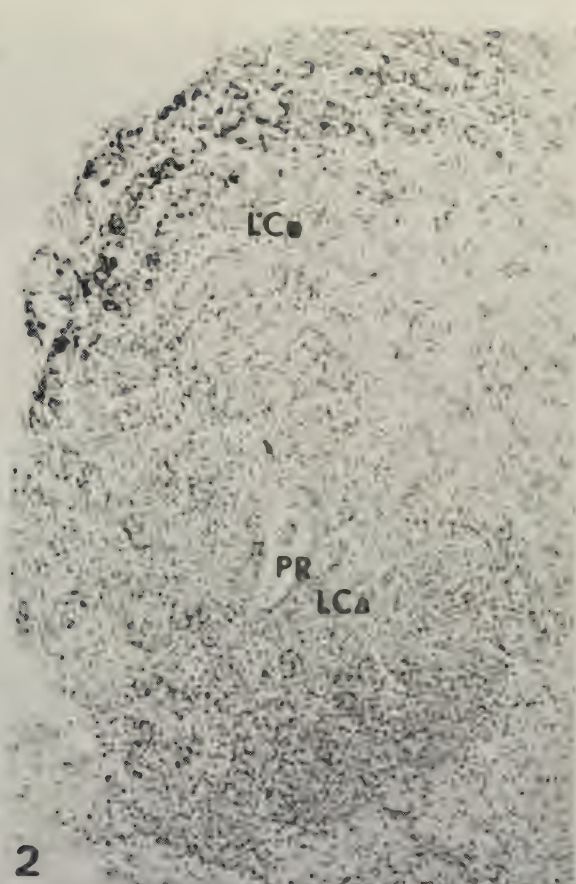
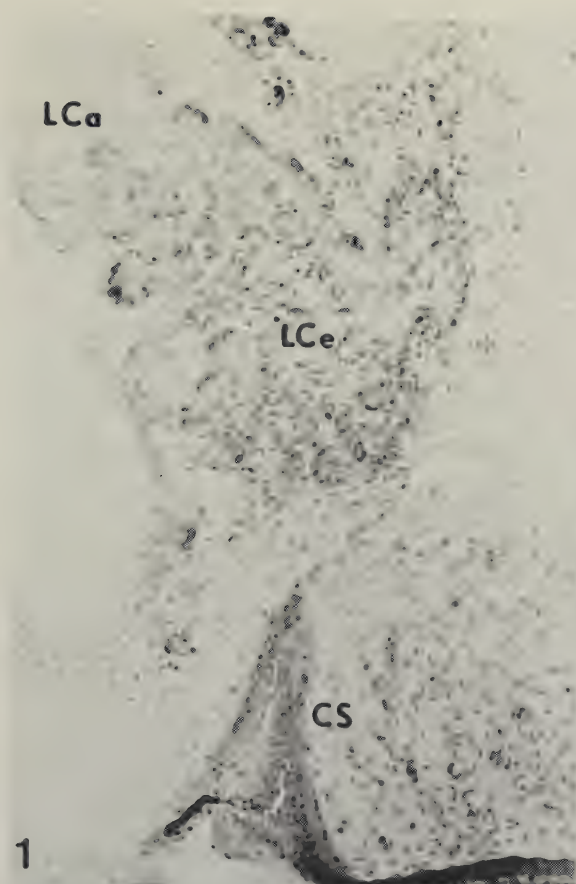
Fig. 3 - Détail de la région moyenne du lobe céphalique (cf. fig. 2). G x 240.

Fig. 4 - Détail du lobe caudal (cf. fig. 2) au voisinage de la lumière. G x 240.

CS : canal stomodaeo-hypophysaire ;

L Ca : lobe caudal ; L Ce : lobe céphalique ;

PR : reste de la lumière de la poche de Rathke ;



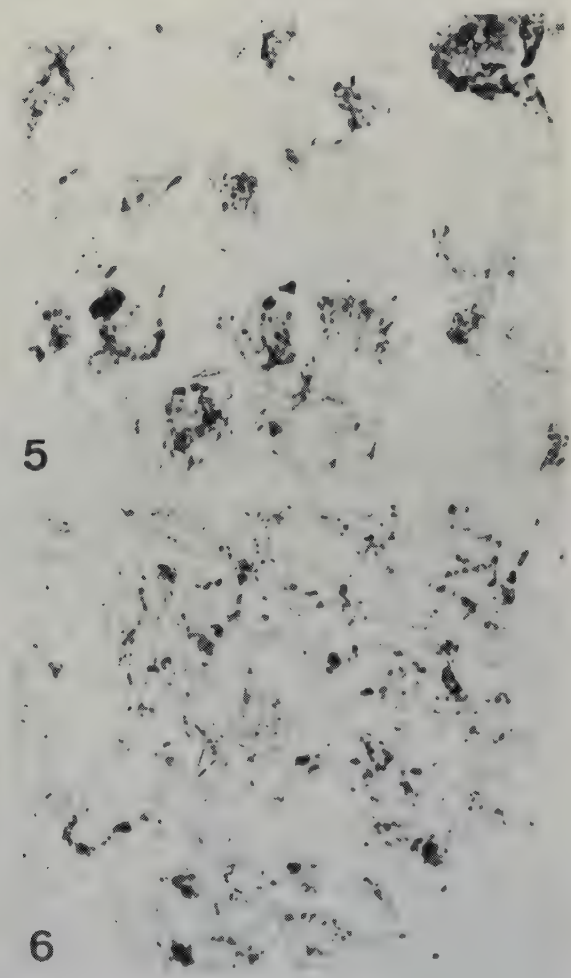
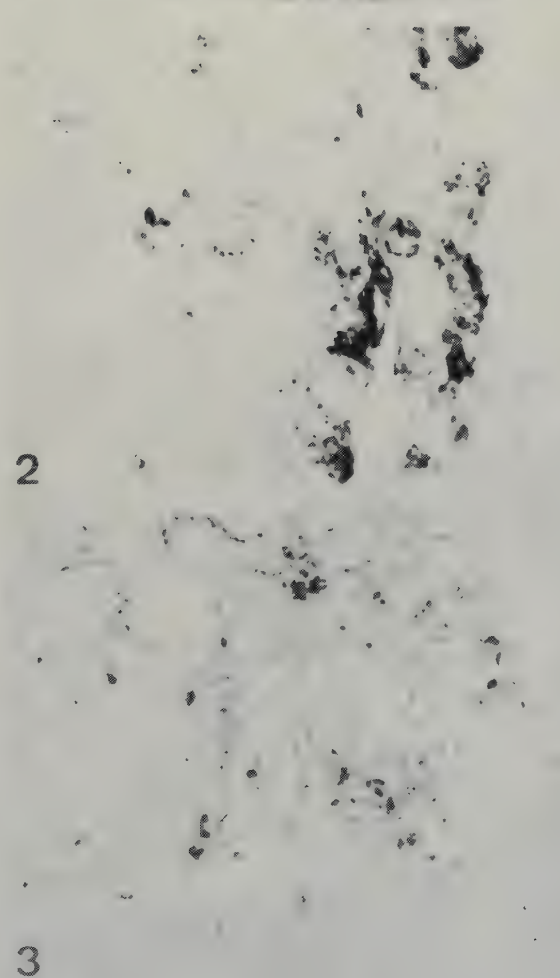
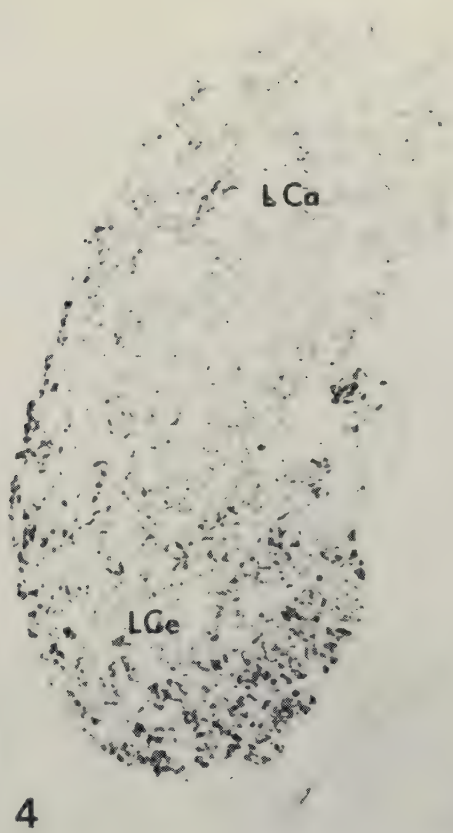
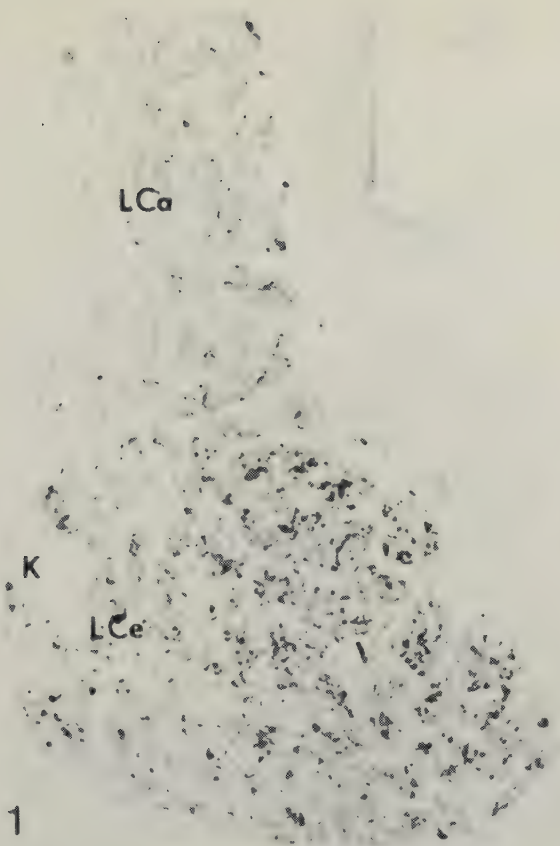
sur certaines coupes sagittales ou voisines du plan sagittal, une zone au niveau de laquelle l'activité persiste malgré l'action du DFP à la concentration de $10^{-6}M$. Cette activité est très localisée. Elle semble correspondre aux cellules de grande taille cyanophiles et APS positives qui apparaissent selon GRIGNON (1956) à partir du 12e jour de l'incubation et qui se colorent en bleu par la résorcine-fuchsine, alors que les autres cellules cyanophiles sont colorées en violet par la même technique. Nous avons également mis en évidence ces cellules de grande taille, elles se colorent en bleu foncé à la suite d'un traitement par la réaction bleu alcian - APS, alors que les autres cellules cyanophiles, plus petites, apparaissent rouges ou violettes.

Si les coupes sont soumises à l'action du DFP à la concentration de $10^{-5}M$, toutes les activités sont inhibées et il n'est plus possible de déceler l'existence d'une activité même faible dans la région ventrale du lobe céphalique. Le DFP à la concentration de $10^{-5}M$ inhibe les activités acétylcholinestérasiques qui persistent après traitement par le DFP à la concentration de $10^{-6}M$ (PEARSE 1960). Les techniques que nous avons utilisées ne nous permettent pas de conclure qu'il s'agit bien d'activité acétylcholinestérasique; il est toutefois intéressant de remarquer que GRIGNON (1956, 1957) envisage, à titre d'hypothèse, que les grandes cellules cyanophiles qui se différencient au niveau du bord ventral du lobe céphalique pourraient être des cellules gonadotropes; or, les travaux effectués sur Zonotrichia leucophrys gambelii ont établi que l'activité acétylcholinestérasique est l'apanage des cellules gonadotropes. Dans le cas des Mammifères, DUMONT (1956) a également montré que l'activité acétylcholinestérasique correspond aux cellules Mac Manus positives. Le traitement de l'adénohypophyse par la réaction bleu alcian - APS chez les Oiseaux adultes, permet de distinguer, au moins dans certaines conditions physiologiques, les cellules thyroïdiques des cellules gonadotropes (TIXIER-VIDAL, 1963). Les cellules thyroïdiques sont bleu alcian positives et réparties dans les 2 lobes; le fait que des cellules se colorent par le bleu alcian dans l'adénohypophyse embryonnaire ne permet pas toutefois de leur attribuer une fonction thyroïdique; les affinités tinctoriales varient, en effet, avec les espèces considérées, mais également en fonction de l'état physiologique.

PLANCHE IX
(Embryon de poulet)

- Fig. 1 à 3 - Activités cholinestérasiques mises en évidence dans l'adénohypophyse d'un embryon de poulet de 16 jours. Les activités sont plus importantes au niveau du lobe céphalique qu'au niveau du lobe caudal. Substrat : iodure d'acétylthiocholine. G x 140.
- Fig. 2 - Détail du lobe céphalique. G x 1000.
- Fig. 3 - Détail du lobe caudal. G x 1000.
- Fig. 4 à 6 - Coupe à congélation pratiquée dans l'adénohypophyse d'un embryon de Poulet âgé de 17 jours et incubée en présence d'iodure de butyrylthiocholine. Les activités cholinestérasiques sont plus fortes au niveau du lobe céphalique. G x 140.
- Fig. 5 - Détail correspondant à des cellules de la zone ventrale du lobe céphalique. G x 1000.
- Fig. 6 - Détail correspondant à la partie ventrale du lobe caudal. G x 1000.

L Ca : lobe caudal ; L Ce : lobe céphalique ; K : kyste situé dans la partie ventrale du lobe céphalique et qui correspond au point d'insertion du canal stomodaeo-hypophysaire.



Quoi qu'il en soit, la comparaison de la répartition des cellules APS positives ou bleu alcian positives (Planche X , fig. 1 et 3) avec celle des activités cholinestérasiques (Planche X , fig. 2 et 4) montre une similitude qui suggère que les activités cholinestérasiques sont liées à ces catégories cellulaires.

Conclusion.

Les techniques que nous avons utilisées nous permettent de caractériser l'état de différenciation de l'adénohypophyse de l'embryon de poulet au cours de la dernière semaine de l'incubation.

Le lobe céphalique se différencie plus rapidement que le lobe caudal : on peut y distinguer, à côté des cellules chromophobes, des cellules "acidophiles" et des cellules cyanophiles. Les cellules cyanophiles sont très rares et de petite taille dans le lobe caudal où des cellules orangeophiles apparaissent vers la fin de l'incubation ; les cellules chromophobes sont toutefois toujours nombreuses dans ce lobe.

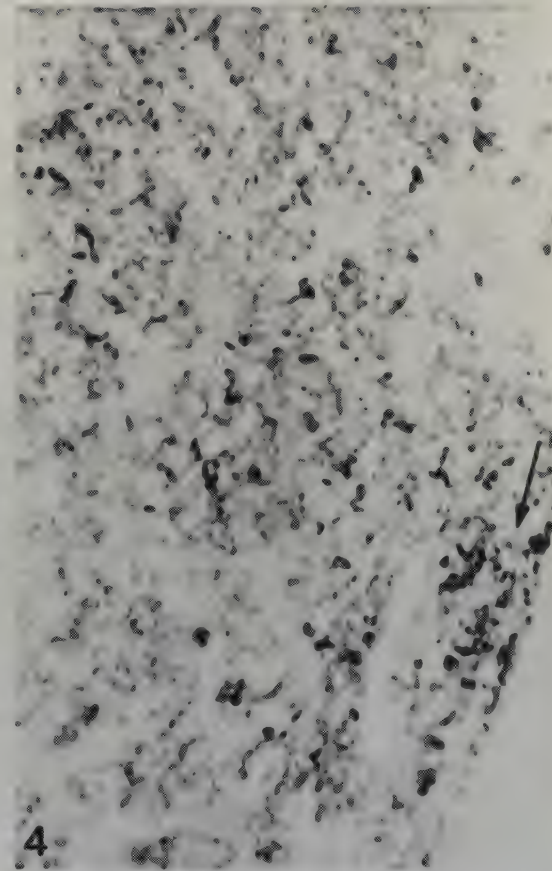
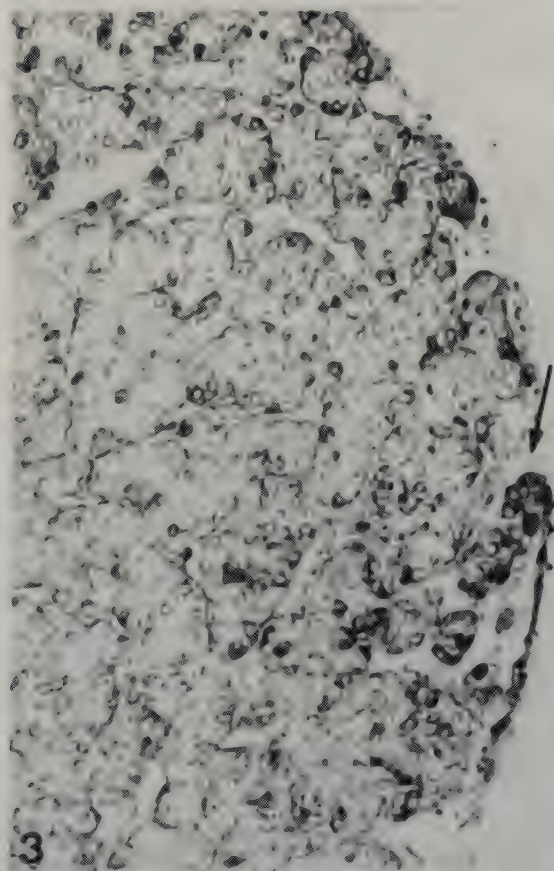
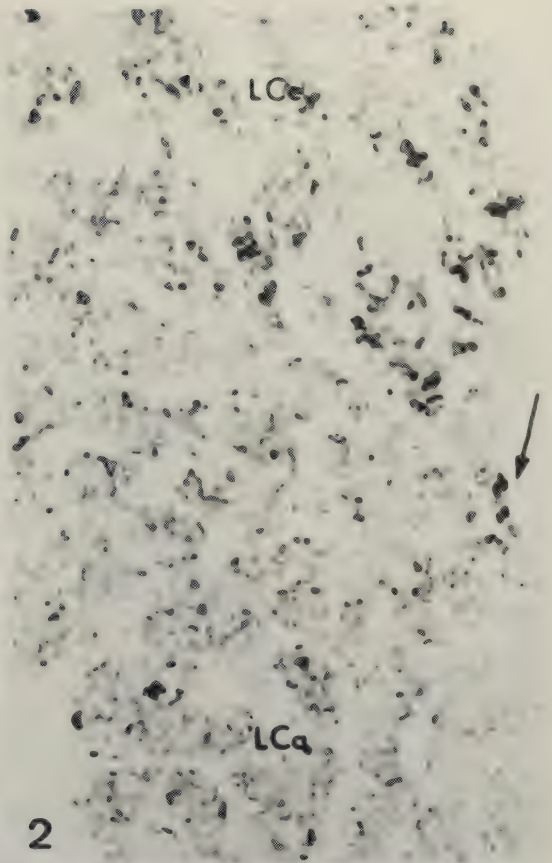
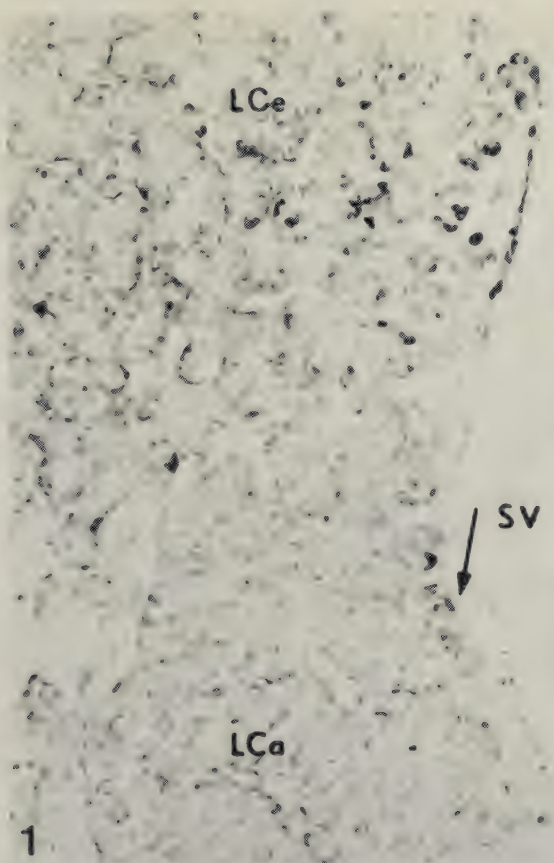
L'adénohypophyse embryonnaire présente, par ailleurs, des activités cholinestérasiques essentiellement non spécifiques décelables au moins à partir du 5e jour de l'incubation, c'est-à-dire avant que la chromophilie des types cellulaires ne se manifeste. L'évolution des activités cholinestérasiques montre un certain parallélisme avec celle des types cellulaires ; ces activités sont plus importantes dans le lobe céphalique que dans le lobe caudal.

PLANCHE X
(Embryon de poulet)

Fig. 1 et 2 - Coupes pratiquées dans des adénohypophyses d'embryons de 17 jours montrant la région de contact des lobes céphalique et caudal. La figure 1 montre les cellules APS et bleu alcian positives, la figure 2, les activités cholinestérasiques (substrat : BuThCh). On remarque la similitude de la répartition des cellules APS ou bleu alcian positive avec celle des fortes activités cholinestérasiques du lobe céphalique. Comme les cellules bleu alcian positives (voir également la planche VII, fig. 1 et 2), les activités cholinestérasiques plus intenses du lobe céphalique, se retrouvent en arrière du sillon ventral (Flèches). Fig. 1, G x 300 ; Fig. 2, G x 300.

Fig. 3 et 4 - Coupes intéressant le lobe céphalique d'adénohypophyses provenant d'embryons âgés de 17 jours. La figure 3 montre les cellules APS et bleu alcian positives, la figure 4 les activités cholinestérasiques (substrat : iodure d'Ac.Th.Ch.). Au petit massif de cellules bleu alcian positives que l'on rencontre dans la zone ventrale du lobe céphalique correspond un îlot d'activités cholinestérasiques plus intenses (Flèches). Le fait que, après action du DFP à la concentration 10^{-6} M une certaine activité persiste à ce niveau semble indiquer qu'il s'agit d'activités acétylcholinestérasiques. Fig. 3, G x 240 ; Fig. 4, G x 240.

L Ca : lobe caudal ; L Ce : lobe céphalique ; SV : sillon ventral.



Deuxième partie

=====

ETUDE EXPERIMENTALE DE LA

DIFFERENCIATION DE L'ADENOHYPOPHYSE

A. - DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES

=====

I. - Morphogenèse et cytogenèse.

Les recherches expérimentales concernant l'adénohypophyse embryonnaire ont porté sur la morphogenèse de l'organe, la différenciation des types cellulaires et l'activité fonctionnelle.

Nous exposerons tout d'abord les travaux concernant la morphogenèse et la différenciation cytologique qui, chez les Oiseaux, ont été souvent étudiées indépendamment de la différenciation fonctionnelle, ce qui n'est pas le cas chez les Batraciens.

L'étude du développement embryonnaire de l'adénohypophyse a permis de voir s'établir de façon temporaire un certain nombre de "contacts" entre la poche de Rathke et les tissus voisins. Seules les études d'embryons anormaux ou la perturbation expérimentale de ces "contacts" pouvaient apporter des précisions sur le rôle qu'ils jouaient dans le développement normal. Rappelons que pendant longtemps les tissus voisins de l'ébauche présomptive ou de la poche de Rathke ont été considérés comme jouant un rôle purement mécanique, la formation de l'hypophyse étant la conséquence des processus de croissance concernant soit l'ensemble de la tête (KINGSBURY et ADELMAN, 1924), soit plus particulièrement la région préchordale (GILBERT, 1935). En dehors de l'étude des embryons anormaux, les méthodes utilisées ont été la destruction localisée, la greffe et la culture in vitro. Très nombreux chez les Batraciens, les travaux expérimentaux sur la différenciation de l'adénohypophyse sont plus limités chez les Oiseaux et très rares chez les Mammifères.

1.) Etude d'embryons anormaux.

La description par HOLT (1921) d'un foetus de porc qui présente une pars neuralis normale alors qu'il est dépourvu de pars buccalis montre l'indépendance du lobe nerveux par rapport au lobe glandulaire; par contre un autre cas décrit par Mac CALL (1943) et qui présente un dédoublement de la poche de Rathke associé à celui de l'infundibulum suggère que la formation de l'ébauche épithéliale dépend du diencephale. L'étude de nombreux foetus humains "anencéphales" a permis d'observer dans presque tous les cas, une adénohypophyse (ATWELL, 1926; PURVES, 1961; WINGSTRAND, 1966) qui le plus souvent ne diffère que peu de celle des foetus normaux (SALAZAR et coll., 1969); le lobe nerveux, au contraire, a un développement perturbé. Etant donné toutefois que

l'anencéphalie n'implique pas l'absence de contact entre l'ébauche adénohypophysaire et le plancher encéphalique, il n'est guère possible de tirer de conclusion de l'étude de foetus "anencéphales" en ce qui concerne le rôle inducteur du tissu nerveux. Les foetus cyclopes peuvent, par contre, être dépourvus d'hypophyse (BEARN, 1968).

L'étude d'embryons ou de foetus anormaux a également permis de constater l'existence d'un dédoublement de l'infundibulum et de l'hypophyse associé à une subdivision de la partie antérieure de la chorde. De telles observations ont été effectuées par GEORGE (1942) chez le Porc par GIROUD et BOISSELOT (1948) et GIROUD et ROUX (1959) chez le Rat; GIROUD et ROUX (1959) citent par ailleurs des études effectuées chez l'embryon de poulet par ORTS-LLOCA (1959) et qui se rapportent à des cas de dédoublement comparables. GIROUD et ROUX (1959) envisagent un rôle inducteur de la chorde dans le développement de l'hypophyse.

2.) Etudes expérimentales effectuées chez les Mammifères.

Les expériences de GAILLARD (1937) ont été effectuées sur le lapin. Cet auteur, par la technique de la culture in vitro, a montré que la pars intermedia ne se développe que lorsque les ébauches nerveuse et épithéliale de l'hypophyse sont mises en contact.

DOSKOCIL (1968) isole, après action de la trypsine, l'épithélium stomodeal chez des embryons de souris de 8 jours 1/2 et 9 jours 1/2. L'épithélium de 8 jours 1/2 est mis en culture sur un filtre millipore au contact du tissu nerveux encéphalique, il prolifère, forme des invaginations et tend à constituer un tube. Une évolution comparable est observée quand cet épithélium est prélevé chez un embryon de 9 jours 1/2. Par contre, l'ectoderme stomodeal isolé chez des embryons de 8 jours 1/2 peut proliférer, mais il ne donne jamais d'invaginations. DOSKOCIL conclut de cette expérience que l'induction exercée par le tissu nerveux doit se poursuivre jusqu'à une période située entre 8 jours 1/2 et 9 jours 1/2 de gestation. A partir de 9 jours 1/2 l'épithélium hypophysaire peut se différencier grâce à la persistance de l'influence inductrice.

La poche de Rathke de l'embryon de souris isolée le 11e jour de la gestation et placée en greffe coelomique chez un embryon de poulet après avoir été associée à du mésenchyme céphalique hétérologue peut évoluer et se différencier en tissu glandulaire. Ce tissu est comparable à celui de la pars distalis de jeunes souris. La fente hypophysaire fait généralement défaut et la pars intermedia ne se différencie pas (FERRAND et NANOT, 1968).

3.) Etudes expérimentales effectuées chez les Batraciens.

Depuis les travaux de SMITH (1916, 1920), le problème des interactions

au cours du développement de l'hypophyse entre ses composantes ectodermique et nerveuse a retenu l'attention de nombreux chercheurs: ALLEN (1929), BLOUNT (1930, 1932, 1935, 1939, 1945), ATWELL (1935, 1937), BURCH (1938, 1939), ETKIN (1935, 1940 a et b, 1941, 1943, 1958 a et b, 1967), ETKIN et ROSENBERG (1938), EAKIN (1939, 1953, 1956), ATWELL et TAFT (1940), UYEMATSU (1940), HEGRE (1942), EAKIN et BUSH (1951, 1957), DRISCOLL et EAKIN (1955), NONAKA et SATO (1957), EYAL-GILADI (1958), THURMOND et EAKIN (1959), HANAOKA (1967 a, b).

Ces travaux ayant été effectués sur des animaux très différents (grenouilles, crapauds, tritons, amblystomes) et à des stades variés du développement, il n'est pas surprenant que les résultats ne concordent pas toujours ou soient même contradictoires. C'est ainsi que pour SMITH (1920) le développement de la pars neuralis est fortement perturbé chez les têtards de grenouilles dont l'ébauche adénohypophysaire a été excisée. Par contre, pour EAKIN et BUSH (1951, 1957), le développement de la neurohypophyse ne dépend pas de l'ébauche épithéliale. ETKIN et ROSENBERG (1938) et ETKIN (1940 a et b, 1941, 1943) obtiennent une hypertrophie de la pars intermedia si l'adénohypophyse est séparée de l'infundibulum ou si l'infundibulum est lésé. Ces résultats sont contredits par ceux de HEGRE (1942); les travaux de cet auteur ont été effectués sur l'amblystome, ils consistent à transplanter l'ébauche épithéliale de l'adénohypophyse, seule ou associée soit à quelques cellules seulement du plancher diencephalique, soit à la plus grande partie du plancher diencephalique. La pars intermedia ne se différencie pas en l'absence de tissu nerveux, elle se forme; par contre, dans 55 % des cas si un peu de tissu nerveux est présent et dans tous les cas lorsqu'une partie importante du plancher encéphalique a été explantée. Pour DRISCOLL et EAKIN (1955), EAKIN (1956), THURMOND et EAKIN (1959) un contact entre l'ébauche épithéliale hypophysaire et le plancher infundibulaire est également indispensable pour que la pars intermedia puisse se développer. L'ablation précoce, au stade neurula, de l'ébauche hypothalamique présumptive pratiquée par HANAOKA (1967) chez Rana pipiens empêche la formation de la pars intermedia, mais le lobe antérieur se différencie dans tous les cas; HANAOKA (1967) conclut que ce lobe a la possibilité de s'autodifférencier, au moins à partir du stade considéré.

La différenciation de la pars intermedia a été étudiée parallèlement à celle de la pars distalis et il faut souligner que cette différenciation a été, dans les deux cas, souvent jugée de façon indirecte, par les actions physiologiques que chacune de ces parties de l'adénohypophyse exerce, sur la pigmentation en ce qui concerne la pars intermedia, sur la thyroïde, la croissance et la métamorphose en ce qui concerne la pars distalis.

Les travaux de ALLEN (1929) ne sont pas concluants, les greffons comportant souvent du tissu nerveux associé à l'ébauche épithéliale et il en est de même de ceux de ETKIN (1939) qui n'a pas cherché à séparer tout le tissu nerveux de l'ébauche adénohypophysaire. Les travaux de BLOUNT (1930, 1932) chez l'Amblystome montrent que l'ébauche épithéliale transplantée seule ne se développe pas; par contre la présence de tissu nerveux dans l'explant assure une

différenciation fonctionnelle. ATWELL (1935, 1937) obtient le développement de l'ébauche épithéliale isolée et greffée chez deux espèces de grenouilles, mais les résultats observés chez l'Amblystome sont moins convaincants. ATWELL pense que les contacts entre l'ébauche épithéliale et le tissu nerveux doivent être maintenus plus longtemps chez l'Amblystome que chez la grenouille. Ultérieurement BLOUNT (1939) précise que les résultats dépendent du stade auquel la séparation des ébauches épithéliale et nerveuse est effectuée; ATWELL et TAFT (1940) obtiennent la différenciation de l'adénohypophyse en greffe chez trois espèces d'Amblystomes, ce résultat est particulièrement démonstratif, car les animaux ne possèdent pas d'adénohypophyse, le greffon a été retrouvé et il était constitué par du tissu adénohypophysaire qui s'était montré fonctionnel.

Les expériences de BURCH (1938, 1939) sur la Rainette ont porté sur des stades précoces. Une partie de la plaque neurale a subi une rotation de 180°, de telle sorte que le myélencéphale se retrouve au contact de l'ébauche présomptive hypophysaire. La pars intermedia ne se développe pas, les têtards sont albinos et la pars distalis reste petite, constituée de tissu indifférencié.

La nécessité d'un contact entre les ébauches infundibulaire et adénohypophysaire a également été montrée par BLOUNT (1930 et suiv.) et surtout par EAKIN (1939). Cet auteur, en injectant de la gélatine dans la poche de Seessel peu avant la formation de la poche de Rathke, empêche l'établissement du contact normal entre les ébauches; l'adénohypophyse ne se différencie pas et il obtient des animaux albinos. EAKIN conclut que l'infundibulum exerce une action inductrice et que l'adénohypophyse ne peut pas s'autodifférencier.

Pour ETKIN (1958 a et b, 1967) l'induction par le tube nerveux est indispensable à un stade précoce, par contre à des stades ultérieurs une autodifférenciation de l'ébauche adénohypophysaire est possible, au moins chez certaines espèces. Les expériences de NONAKA et SATO (1957) chez le Crapaud montrent que la différenciation du lobe antérieur de l'hypophyse peut être induite par du tissu nerveux autre que l'infundibulum; l'ébauche adénohypophysaire n'induit pas, dans ce cas, la formation d'un lobe nerveux.

EYAL-GILADI (1958) a réalisé sur Pleurodeles waltlii des expériences qui tendent à conférer à la chorde un rôle inducteur précoce. Cet auteur pratique, avant le stade neural, l'excision de la partie antérieure de la chorde, en respectant la plaque préchordale; chez les embryons ainsi opérés l'adénohypophyse ne se développe pas. Par contre, si l'opération est pratiquée après le début du stade neurula, l'adénohypophyse se développe. EYAL-GILADI pense que la chorde pourrait également jouer un rôle dans l'évolution ultérieure de la poche de Rathke.

De l'ensemble des travaux effectués chez les Batraciens, il ressort que deux phases au moins peuvent être distinguées dans le développement précoce

de l'adénohypophyse: une première phase au cours de laquelle des contacts étroits entre son ébauche et le tissu nerveux du plancher encéphalique sont indispensables et une deuxième phase au cours de laquelle ces contacts peuvent être perturbés ou interrompus sans qu'il en résulte une absence de différenciation de la glande.

Certaines expériences montrent, par ailleurs, d'une part que le pouvoir inducteur exercé par le tissu nerveux sur l'ectoderme stomodeal ne serait pas limité au plancher encéphalique et d'autre part que la partie antérieure de la chorde exercerait également une action inductrice.

Nous n'avons exposé que les travaux concernant le développement précoce de l'adénohypophyse. Des expériences très importantes ont été effectuées à des stades plus tardifs du développement des Batraciens, mais elles entrent dans le cadre de l'étude des relations hypothalamo-hypophysaires et concernent à la fois la différenciation cytologique et fonctionnelle de l'adénohypophyse. Nous reviendrons sur ces études ultérieurement.

4.) Etudes expérimentales effectuées chez l'embryon de poulet.

a. - Greffes.

La greffe chorio-allantoïdienne de blastodermes entiers prélevés à des stades présomitiques (WILLIER et RAWLES, 1931) ou de la région médiane du blastoderme comprenant le noeud de Hensen au stade de la ligne primitive définitive (RUDNICK, 1932) a permis aux auteurs d'observer le développement de tissu adénohypophysaire.

STEIN (1929, 1933), par la même technique, a étudié le développement de régions antérieures du blastoderme plus ou moins étendues et prélevées au stade du prolongement céphalique. Du tissu adénohypophysaire s'est différencié dans un seul cas sur 42; le cas positif a été obtenu en greffant une zone limitée en avant par l'aire opaque et s'étendant en arrière jusqu'à la région moyenne du prolongement céphalique.

HUNT (1931) a également obtenu du tissu adénohypophysaire en greffant le seul noeud de Hensen, mais les expériences de HUNT ont été analysées par STEIN (1933) qui évoque la possibilité d'une confusion entre tissu adénohypophysaire et thyroïdien, confusion qu'elle déclare avoir elle-même commise. Il convient de souligner que la structure du tissu obtenu constituait pour ces auteurs le principal critère d'identification du tissu adénohypophysaire dans des greffons comportant les tissus de la tête et de la partie antérieure du tronc comprenant le coeur et le foie (STEIN 1933). Ces travaux expérimentaux s'appliquant à des embryons jeunes ont surtout apporté des précisions sur la localisation de

l'ébauche adénohypophysaire présomptive: elle se situe dans l'axe du blastoderme en avant du noeud de Hensen.

STEIN, en effectuant des greffes de territoires provenant d'embryons de plus en plus âgés (jusqu'au stade de 5 jours d'incubation), obtient un pourcentage de développement de tissu adénohypophysaire de plus en plus important. Le pourcentage, très faible quand les régions greffées sont prélevées avant le stade de 8 somites, atteint 55 %, 79 % et 94 % quand les parties greffées sont prélevées chez des embryons à des stades compris respectivement entre 9 et 12 somites, 16 et 30 somites et 3 à 5 jours d'incubation. Il faut remarquer que, dans tous les cas, le greffon comportait à la fois l'ébauche adénohypophysaire soit présomptive, soit apparente et le tissu nerveux au contact duquel elle se développe in situ. STEIN (1929) a également étudié le développement en greffe chorio-allantoïdienne de deux types de greffons constitués à partir de tissus provenant d'embryons au stade de 2 somites et de 13 somites. Le premier type de greffon (a) comprend de l'ectoderme prélevé sur la face ventrale du prosencéphale, (c'est-à-dire en principe l'ébauche présomptive) et du mésoderme, l'intestin antérieur étant éliminé "le mieux possible". Le deuxième type de greffon (b) complémentaire du greffon (a) comprend le prosencéphale et également de l'ectoderme; le greffon (b) constitue donc un témoin destiné à vérifier a posteriori que l'ectoderme présomptif a bien été prélevé avec le greffon (a), ce qui implique l'absence de tissu adénohypophysaire dans le greffon (b). Les 16 greffons (a) n'ont jamais donné de tissu adénohypophysaire, par contre 4 greffons (b) sur 15 en ont montré. Le résultat de cette expérience s'explique en partie par le fait que la tentative de séparation des différents tissus par des moyens mécaniques entraîne des dommages importants et également par le fait que les rapports des tissus sont tels qu'il n'est pas possible de les isoler par la technique utilisée. STEIN (1933) conclut de ses expériences que l'absence d'hypophyse, dans les greffons, ne peut pas être mise en rapport avec la présence ou l'absence d'aucune structure, à l'exception du tissu nerveux encéphalique. L'hypophyse n'a jamais été retrouvée dans les greffons dépourvus de tissu nerveux, mais la présence de tissu encéphalique "normal" n'assure pas la différenciation de tissu adénohypophysaire. STEIN évoque également la possibilité que la différenciation de l'hypophyse soit subordonnée au respect des structures, condition qui n'est pas forcément réalisée dans les greffons.

Des expériences de greffes d'adénohypophyse, prélevées à divers stades, après le 5e jour de l'incubation, ont été effectuées chez l'embryon de poulet ; leur but étant l'étude de la différenciation cytologique et fonctionnelle elles seront rapportées ultérieurement.

b. - Destructures ou lésions localisées.

WOLFF et KANTOR (1937), en détruisant par la méthode des irradiations localisées aux rayons X le prosencéphale d'embryons de poulet aux stades de 12 à 15 somites, obtiennent des cyclocéphales anophtalmes dépourvus

d'hypophyse. De nombreuses expériences d'hypophysectomie par décapitation mécanique ont été effectuées chez l'embryon de poulet à la suite de la description de cette technique par FUGO et WITSCHI (1938). Les embryons dépourvus d'hypophyse et d'hypothalamus ainsi obtenus, ont donné lieu à de nombreuses recherches qui seront analysées dans la 2e partie de notre travail; nous avons nous-mêmes utilisé de tels embryons comme porte-greffe pour étudier la différenciation de la poche de Rathke.

Les expériences de HILLEMANN (1943) ont consisté à détruire par électrocoagulation soit le tissu nerveux, soit l'ectoderme stomodeal dans la région hypothalamo-hypophysaire ou dans les régions voisines. Cet auteur a utilisé des embryons dont la poche de Rathke n'est pas encore apparente aux stades de 20 heures (repli céphalique transverse), 24 heures (4 somites) et de 33 à 35 heures d'incubation (12 à 14 somites). HILLEMANN conclut de ses expériences que le tissu nerveux induit la formation de la poche de Rathke, qui influence en retour celle du lobe nerveux; un étroit contact entre ces deux ébauches doit être maintenu pour que le développement normal de l'hypophyse puisse s'effectuer. Une désorganisation mécanique de l'infundibulum, accompagnée ou non d'une faible destruction, n'affecte pas le développement du lobe épithélial. L'ectoderme stomodeal régénéré, après le stade de 33 heures, est toujours compétent pour constituer une adénohypophyse normale sous l'influence inductrice de la région infundibulaire.

c. - Culture in vitro

La culture in vitro de l'ébauche hypophysaire a été effectuée par H. MOSCONA et A. MOSCONA (1952) et SOBEL (1958). H. MOSCONA et A. MOSCONA prélèvent les ébauches hypophysaires à des stades allant de 4 jours à 13 jours d'incubation; dans la plupart des cas les explants proviennent toutefois d'embryons de 6 jours. Les explants comportent du tissu nerveux qui prolifère au cours de la culture, le processus infundibulaire donnant naissance à plusieurs diverticules. La durée de certaines cultures a atteint 24 jours, la partie centrale des explants présentant alors de la nécrose; il convient de remarquer que dès le 4e jour certaines cellules montrent des signes de nécrose et d'autres forment des kystes; H. MOSCONA et A. MOSCONA considèrent qu'il s'agit là de phénomènes normaux de dégénérescence morphogénétique. Des cellules cyanophiles et acidophiles se différencient à des stades variables selon les explants, plus rapidement toutefois qu'elles ne le font in situ. TIXIER-VIDAL (1958) a cultivé des hypophyses prélevées à 6, 7 ou 8 jours; après 4 jours de culture le tissu adénohypophysaire ne permet pas de localiser avec certitude des cellules APS positives; les cellules qui ont subi une partie de leur développement in vitro montrent, par ailleurs, des granulations peu colorables par l'azan. Nous avons effectué des observations identiques en cultivant in vitro

du tissu adénohypophysaire s'étant préalablement différencié en greffe; la réaction à l'APS de ce tissu, après 2 jours de culture in vitro, est extrêmement faible, la coloration par le tétrachrome ne permet pas de distinguer avec certitude des cellules acidophiles et cyanophiles. Les résultats contradictoires semblent pouvoir trouver une explication dans le fait que les milieux de culture utilisés diffèrent notablement. Les milieux employés par H. MOSCONA et A. MOSCONA comprennent notamment du plasma de poule, alors que ceux utilisés par TIXIER-VIDAL et nous-mêmes ne comportent que de l'extrait embryonnaire an hormonal. Par ailleurs, il faut remarquer que les cultures effectuées par H. MOSCONA et A. MOSCONA aboutissent souvent à la formation de lobes épithéliaux de petite taille; aucune indication n'est fournie par ces auteurs sur la répartition des types cellulaires, bien que l'explantation ait eu lieu à des stades auxquels la subdivision en deux segments est nette.

Les expériences de culture in vitro effectuées par SOBEL (1958) ne portent pas sur l'ébauche épithéliale telle que nous l'avons définie, mais sur l'ébauche adénohypophysaire au stade de 8 jours d'incubation qui est constituée par des cordons cellulaires déjà nombreux. Cet auteur a isolé l'ébauche après traitement par la trypsine, cette technique permettant d'éliminer le mésenchyme périphérique, mais pas celui qui se trouve englobé par les cordons cellulaires. Dans ces conditions, l'ébauche évolue et se différencie; les cellules acidophiles et basophiles sont mises en évidence après 4 jours de culture. Il convient de remarquer à ce sujet que SOBEL considère qu'il est possible de prélever au 8e jour de l'incubation du tissu adénohypophysaire encore indifférencié, alors qu'en fait les premiers types cellulaires sont déjà différenciés (ARONSSON, 1952; GRIGNON, 1956). Dans une deuxième série expérimentale SOBEL, après avoir isolé l'ébauche au même stade et dans les mêmes conditions, la divise en plusieurs morceaux qui sont soumis à l'action de la collagénase, de façon à effectuer une dissociation cellulaire. Les cellules mésenchymateuses sont détruites par l' α -toxine présente dans la collagénase à la concentration utilisée; les cellules épithéliales, par contre, sont préservées; placées en culture in vitro pendant 48 heures, elles forment des agrégats. Les agrégats les plus développés sont alors cultivés sur un milieu comportant du plasma et du jus d'embryon. Les cellules survivent et restent en bon état, même si la culture est prolongée plus de 15 jours, mais ces cellules n'évoluent pas. L'examen histologique a confirmé l'absence d'éléments mésenchymateux. Par contre, si les agrégats cellulaires constitués en milieu liquide sont ensuite placés en culture au contact d'une source de mésenchyme sous forme d'un fragment de cartilage de phalange, des fibroblastes issus du périchondre entourent progressivement les cellules adénohypophysaires qui vont alors se différencier. Les 2 tissus s'associent étroitement; après 3 jours de culture, les fibroblastes ont formé une capsule autour des cellules épithéliales et pénètrent entre les cellules qui constituent alors de véritables lobules. Après 6 jours de culture, des cellules chromophiles peuvent être mises en évidence, ce sont surtout des cellules acidophiles situées à la périphérie des lobules; les cellules basophiles sont très rares. Cette expérience montre la nécessité absolue de la présence d'un mésenchyme pour que la prolifération et la différenciation de l'ébauche adénoypo-

physaire puissent se maintenir ou se poursuivre. On ne peut, en effet, attribuer dans ce cas au mésenchyme un rôle dans l'initiation de la différenciation, puisque l'ébauche, comme nous l'avons indiqué, présente des types cellulaires déjà différenciés au moment du prélèvement.

De l'ensemble des travaux que nous avons analysés, il résulte que les problèmes posés par le développement de l'adénohypophyse impliquent l'étude d'un certain nombre d'interactions tissulaires et de leur chronologie. Bien que la théorie mécanique de la formation de l'hypophyse ait perdu de son importance depuis que le rôle des interactions tissulaires a été établi, nous la résumerons dans ses grandes lignes. Pour ADELMAN (1922), BRAHMS (1932) et GILBERT (1935) notamment, la courbure de l'axe neural provoque une flexion de la chorde et du mésenchyme préchordal, qui a pour conséquence de le séparer du tissu nerveux. Le développement du tube nerveux, en avant de la chorde, associé à l'accentuation de la courbure, entraine, au niveau de l'ectoderme ventral de la tête, la formation d'un angle qui devient progressivement la poche de Rathke. Différents auteurs ont expliqué la suite du développement en invoquant la traction que la chorde exercerait sur la poche de Rathke (MIHALKOVICS, 1875; HOLT, 1921; LUPS, 1929); la prolifération du mésenchyme contribuerait à ce mouvement. Une étude de l'activité mitotique au niveau de la poche de Rathke effectuée par DOSKOCIL (1965) amène cet auteur à conclure que la poche de Rathke résulte d'une prolifération active, plutôt que de processus purement mécaniques.

Les problèmes essentiels toutefois ont trait aux rapports de l'ébauche adénohypophysaire avec les tissus environnants, tissu nerveux, mésenchyme, chorde, poche de Seessel.

Rapports avec le tissu nerveux.

.....

La nécessité, pour que l'adénohypophyse se différencie, de l'existence d'un contact entre le plancher encéphalique et l'ébauche adénohypophysaire pré-somptive, paraît bien établie chez les Batraciens. Par contre, chez les Oiseaux, la séparation du tissu nerveux et de l'ébauche ectodermique n'a pas été effectuée de façon satisfaisante (STEIN, 1929, 1933) et les expériences de HILLEMANN (1943) portent uniquement sur des stades antérieurs à la formation de la poche de Rathke. Dès lors, de nombreux problèmes se posent. Ainsi, on peut se demander si l'action inductrice du plancher encéphalique s'exerce de façon très limitée dans le temps, ou si au contraire elle doit être maintenue longtemps. Le plancher encéphalique conserve-t-il son pouvoir inducteur au cours du développement? Peut-il exercer une influence sur une ébauche épithéliale provenant d'un autre embryon d'âge différent? Le pouvoir inducteur est-il limité au plancher prosencéphalique? La différenciation des types cellulaires de l'adénohypophyse est-elle la conséquence, comme la formation de la poche de Rathke, de l'induction exercée par le plancher du prosencéphale ou bien est-elle liée à l'établissement des relations hypothalamo-hypophysaires après la mise en place de la vasculari-

sation le 6e jour de l'incubation? Existe-t-il un délai entre la période d'induction et l'établissement des relations hypothalamo-hypophysaires, l'ébauche montrant dans ce cas une certaine autodifférenciation? Le lobe caudal de l'adénohypophyse évolue plus lentement que le lobe céphalique, notamment la zone située à proximité de l'ébauche infundibulaire et qui a parfois été décrite comme correspondant à la pars intermedia. La pars neuralis exerce-t-elle, comme l'a envisagé GRIGNON (1952, 1956), une influence inhibitrice sur la prolifération des cellules du segment caudal de la poche de Rathke?

Rapports avec le mésenchyme.

Dans les travaux que nous avons rapportés, le mésenchyme est considéré comme jouant un rôle accessoire. Dans un premier temps, son absence totale pour assurer un contact étroit entre l'ectoderme et le tissu nerveux est indispensable; par contre, dans un deuxième temps, sa prolifération contribue à éloigner du tube nerveux l'ectoderme de surface, alors que l'ectoderme hypophysaire reste accolé au tube nerveux (GILBERT, 1935). Le rôle qualitatif du mésenchyme tel qu'il a été mis en évidence dans l'évolution de nombreuses ébauches épithéliales, n'a été l'objet d'aucune étude précise. Nous nous sommes posés, dans le cas de l'adénohypophyse, la question de savoir si le mésenchyme préchordal était le seul compétent pour permettre la prolifération et la différenciation de l'ébauche adénohypophysaire.

Rapports avec la chorde.

L'existence de deux ébauches adénohypophysaires associée à celle de deux chordes dorsales signalée par GIROUD et BOISSELOT (1948) et par GIROUD et ROUX (1959) chez des embryons anormaux, ainsi que les contacts existant, dans certains cas, entre la chorde et la poche de Rathke "peuvent évoquer l'existence d'un dispositif susceptible d'acheminer quelque substance inductrice de la chorde vers la région postérieure de la poche de Rathke et l'ébauche infundibulaire", comme l'a écrit GRIGNON (1956). Cette question d'une éventuelle influence inductrice de la chorde sur l'ébauche adénohypophysaire présomptive n'est toutefois pas résolue.

Rapports avec la poche de Seessel.

Bien qu'il soit généralement admis que la poche de Seessel ne participe que peu ou pas du tout à la formation de l'adénohypophyse, aucune preuve formelle n'en a été fournie. Il nous a paru intéressant de voir quelle pourrait être l'évolution de la poche de Seessel placée au contact direct du tissu nerveux inducteur ou au contact d'un mésenchyme d'origine ventrale, c'est-à-dire présentant une certaine parenté embryologique avec elle.

Pour répondre aux questions posées, nous avons étudié le tissu formé à partir de la poche de Rathke placée dans différentes conditions expérimentales

et nous avons comparé ce tissu à celui qui se différencie normalement in situ. Nous avons, en effet, indiqué que des confusions sont possibles quand un tissu évolue en position ectopique et que les repères habituels ne sont plus utilisables. Ainsi HUNT (1931) et STEIN (1933) ont pu confondre tissu adénohypophysaire et thyroïdien ; STEIN (1933) déclare également que, dans certaines de ses expériences, du tissu adénohypophysaire ait pu être présent dans les greffons, mais en trop faible quantité pour être reconnu. Les expériences de BLOUNT (1945) sur l'embryon d'amblystome consistant à enlever la région infundibulaire en laissant l'ébauche adénohypophysaire intacte, ont permis à cet auteur de retrouver du tissu appartenant au lobe antérieur, mais ce tissu n'était pas normal ; il était peu développé, fortement colorable et il présentait des noyaux picnotiques. La même observation a été effectuée par BURCH (1938) sur la même espèce.

Ces quelques exemples montrent la nécessité d'utiliser les critères qui caractérisent l'adénohypophyse "normale" pour étudier le tissu formé dans les greffons. Ces critères concernent la prolifération du tissu, sa structure générale et la différenciation des catégories cellulaires.

II. - Physiologie de l'adénohypophyse embryonnaire.

Les données bibliographiques relatives à la physiologie de l'adénohypophyse embryonnaire se rapportent, pour la plupart, aux Batraciens, aux Oiseaux et aux Mammifères. Ces données sont extrêmement nombreuses, nous les résumerons de façon très sommaire en ce qui concerne les Batraciens et les Mammifères.

1.) Chez les Batraciens.

Nous avons précédemment indiqué que les expériences concernant la morphogenèse et la cytogenèse de l'adénohypophyse ont été, dans la plupart des cas, associées à des études physiologiques. La différenciation de l'ébauche adénohypophysaire ou, au contraire, l'absence de différenciation sont souvent jugées d'après des manifestations physiologiques diverses : coloration, croissance, métamorphoses. Parmi ces manifestations physiologiques, l'albinisme des têtards a été particulièrement utilisé comme preuve de l'absence de différenciation de pars intermedia et par suite de l'absence de différenciation de la totalité de l'adénohypophyse. Il convient de remarquer que c'est à un stade de développement post-embryonnaire que la physiologie adénohypophysaire a été étudiée, même si les expériences (hypophysectomie, greffes) ont été réalisées à des stades embryonnaires.

De l'ensemble des expériences que nous avons analysées (cf. A., I, 3,) et qui concernent des stades embryonnaires, il ressort que les têtards privés d'adénohypophyse sont albinos, ils ne se métamorphosent pas, leur thyroïde étant fortement affectée par l'hypophysectomie. La greffe d'une ébauche adénohypo-

physaire peut permettre, quand elle est pratiquée à certains stades de la vie embryonnaire et au moins chez certaines espèces, d'obtenir chez les têtards une stimulation de la thyroïde et un rétablissement des métamorphoses accompagnés d'un retour à la coloration normale.

SMITH (1916, 1920) et ALLEN (1929) ont constaté un ralentissement de la croissance des têtards hypophysectomisés au cours de la vie embryonnaire, ces têtards pouvant toutefois atteindre une taille importante tardivement.

Les expériences de VOITKEVITCH (1963) consistant en diverses opérations de lésions, de déconnexions hypothalamo-hypophysaires et d'hypophysectomies effectuées au stade du bourgeon caudal, perturbent la différenciation de l'adénohypophyse, la croissance notamment est fortement ralentie. Si l'intervention effectuée empêche le processus de neurosécrétion de s'établir, la différenciation des cellules acidophiles adénohypophysaires est inhibée et il n'y a pas de sécrétion d'hormone somatotrope. Par contre, ETKIN et LEHRER (1960), en greffant l'ébauche adénohypophysaire dans la région caudale, obtiennent une croissance des têtards supérieure à la normale; cette observation n'a pas été accompagnée d'une étude cytologique du greffon et l'activité fonctionnelle ne peut donc pas être reliée à un type cellulaire défini; elle suggère toutefois une possibilité de fonctionnement de l'adénohypophyse en dehors de toute intervention hypothalamique.

Les expériences d'hypophysectomie effectuées au stade larvaire donnent des résultats comparables à ceux observés quand l'hypophysectomie a lieu au stade embryonnaire. Elles n'entraînent toutefois pas de ralentissement de la croissance dans le cas d'Alytes obstetricans, l'ablation du diencéphale empêche l'évolution cytologique de l'adénohypophyse dont la coloration générale est terne; les métamorphoses n'ont pas lieu et la croissance est perturbée (REMY, 1962, 1969).

Les travaux de PASTEELS (1954, 1957) sur la larve de Pleurodèle ont montré que la cytologie adénohypophysaire est affectée par la déconnexion hypothalamique. La transplantation de l'hypophyse lorsqu'elle est effectuée précocement, empêche la différenciation des cellules chromophiles qui n'apparaît pas, même lorsque le greffon comporte des fragments d'hypothalamus ou de pars neuralis. Lorsque la transplantation a lieu après la différenciation des cellules thyrotropes et des cellules acidophiles, les cellules thyrotropes subissent une involution, alors que les cellules acidophiles poursuivent leur développement normal. PASTEELS précise, par ailleurs, que la croissance de la thyroïde est fortement retardée et que les larves hypophysectomisées et greffées ne montrent aucune tendance à la métamorphose, que l'intervention soit précoce ou tardive.

Au stade larvaire, l'adénohypophyse est donc soumise à un contrôle hypothalamique qui semble toutefois varier avec les catégories cellulaires considérées. Il convient de souligner que, au cours de la vie larvaire et notamment à l'approche de la métamorphose, la chromophilie des cellules adénohypophysaires, thyrotropes et acidophiles en particulier, présente des variations importantes.

Le fait que les expériences pratiquées chez l'embryon de Batraciens débordent sur la vie larvaire leur confère un caractère particulier qui les rend difficilement comparables sur le plan physiologique aux expériences effectuées chez les Oiseaux.

2.) Chez les Mammifères.

Parmi de nombreuses expériences effectuées chez le fœtus de Mammifère les travaux de JOST et de son école sont essentiels. Différents articles de synthèse ont été publiés sur ce sujet (JOST, 1951, 1966; BENOIT, 1962).

Les hypophysectomies chez l'embryon de Mammifère ont été pratiquées soit par décapitation (JOST, 1947), soit par action des rayons X (RAYNAUD et FRILLEY, 1947 a).

L'hypophysectomie n'entraîne pas généralement de ralentissement de la croissance des embryons de lapin (JOST, 1947), de rat (JOST, 1951), de souris (RAYNAUD, 1950). Toutefois HEGGESTAD et WELLS (1965) rapportent une diminution de la croissance d'embryons de rats hypophysectomisés, l'injection d'hormone somatotrope a permis à ces auteurs de rétablir une croissance normale. JOST (1966) précise que même si la croissance du fœtus ne requiert pas d'hormone somatotrope, cela ne signifie pas qu'elle ne joue aucun rôle chez le fœtus.

L'hypophysectomie entraîne des troubles dans le métabolisme du glycogène hépatique (JOST et JACQUOT, 1955). Le taux de glycogène ne s'accroît plus après le 25^e jour de la gestation. Son accumulation est sous la dépendance à la fois d'un corticostéroïde et d'une hormone hypophysaire (hormone somatotrope ou prolactine) (JOST et JACQUOT 1958).

La différenciation de la thyroïde des fœtus décapités peut s'effectuer bien qu'elle soit retardée (JOST, 1953). Le volume de la thyroïde est fortement diminué chez le Hamster (C.L. FOOTE et F.M. FOOTE, 1949). De nombreuses expériences ont toutefois prouvé que le fonctionnement normal de la thyroïde fœtale requiert l'existence d'une stimulation hypophysaire (JOST, 1966). JOST et GELOSO (1967) ont montré que chez le fœtus la fonction thyrotrope de l'adénohypophyse est indépendante de l'hypothalamus. Ce résultat explique que, chez les anencéphales, qui possèdent généralement un lobe antérieur, la thyroïde se différencie comme chez l'embryon.

Le volume des glandes surrénales est fortement réduit à la suite de l'hypophysectomie, notamment chez le Lapin (JOST, 1948), le Rat (WELLS, 1948; JOST, 1951; COHEN, 1955), le Hamster (FOOTE, 1955). La réduction de taille s'accompagne d'une modification de la structure histologique. La soudanophilie des lipides de la zone corticale est réduite (COHEN, 1955); il en est de même pour la quantité d'acide ascorbique (COHEN, 1958). L'injection d'ACTH aux fœtus lors de la décapitation permet d'observer une différenciation normale (WELLS, 1948;

JOST, 1951; COHEN, 1958). Contrairement à la fonction thyroïdienne, la fonction corticotrope est, chez le fœtus, sous la dépendance de l'hypothalamus (JOST et coll., 1966; DUPOUY et JOST, 1970). L'influence de l'hypothalamus sur l'hypophyse du fœtus de rat est plus importante entre le 19^e et le 21^e jour de la gestation (COHEN et coll. 1971). Les corticoïdes maternels peuvent passer à travers le placenta et intervenir dans le fonctionnement de l'hypophyse fœtale (COHEN et coll., 1971).

Chez le Lapin, la décapitation du fœtus effectuée à 18 ou 19 jours entraîne des perturbations dans le développement du testicule et de l'appareil génital du mâle (JOST, 1948). Pratiquée plus tardivement, à 22 jours, la décapitation ne provoque que des altérations légères. L'hypophyse intervient donc dans une période critique, cette intervention s'accompagne d'une accumulation, puis d'une décharge de matériel APS positif (JOST et DANYSZ, 1952; JOST et GONSE, 1953). Chez le Rat (JOST et COLONGE, 1949) et la Souris (RAYNAUD et FRILLEY, 1947 a et b) la décapitation se traduit par des altérations très légères du testicule et de l'appareil génital. Le problème du développement de l'appareil génital des anencéphales humains est complexe, il pourrait être sous la dépendance de ses propres hormones adénohypophysaires, mais également sous l'influence d'hormones maternelles ou placentaires (JOST, 1966).

La croissance du fœtus de Mammifère ne dépend donc pas de l'hypophyse, il en est de même de la différenciation des gonades et de l'appareil génital, sauf chez le Lapin. Par contre, le développement de la glande surrénale, ainsi que le fonctionnement normal de la thyroïde nécessitent une stimulation hypophysaire. La fonction thyroïdienne manifeste une certaine autonomie vis-à-vis de l'hypothalamus qui, par contre, exerce un contrôle de la fonction corticotrope.

3.) Chez les Oiseaux

a. - Conséquences de l'hypophysectomie.

Les expériences d'hypophysectomie ont été effectuées, dans la plupart des cas, en empêchant la formation de la poche de Rathke. Le résultat a été obtenu soit en détruisant par la méthode des rayons X localisés (WOLFF et KANTOR (1937) la région prosencéphalique, soit par décapitation (FUGO et WITSCHI, 1938). La technique de FUGO et WITSCHI a été utilisée par de nombreux auteurs; elle consiste à exciser le prosencéphale d'embryons à des stades variant de 10 à 15 somites selon les auteurs, la section étant effectuée à différents niveaux compris entre la limite antérieure du mésencéphale et sa limite postérieure. Parmi les travaux comportant des expériences d'hypophysectomie plusieurs sont accompagnés d'importantes revues bibliographiques, c'est le cas notamment de ceux de HINNI et WATTERSON (1963), de BETZ (1967) et de BRASCH et BETZ (1971).

α Sur le poids corporel et la survie des embryons

Pour WOLFF et STOLL (1937), ANCEL (1937), STOLL (1939 a et b) l'hypophysectomie ne retentit pas sur le développement des embryons dont le poids corporel et le taux de mortalité ne diffèrent pas de ceux des embryons témoins.

Pour BETZ (1967) par contre, la mortalité des embryons décapités est très élevée et le 20^e jour de l'incubation le taux de survie n'est plus que de 6 %, alors qu'il est de 72 % pour les embryons témoins.

En ce qui concerne le poids corporel, pour FUGO et WITSCHI (1938), FUGO (1940), CASE (1952), WITSCHI (1956), VOGEL (1957) et BETZ (1967, 1968) il est considérablement réduit chez les embryons hypophysectomisés et peut, dans certains cas, ne pas excéder 50 % du poids des embryons normaux d'âge correspondant. Pour WITSCHI (1949, 1956) la quantité d'albumine ingérée par les embryons décapités serait fortement réduite, ou même nulle et ce serait là une des causes possibles du ralentissement de la croissance de ces embryons au cours de la 2^e moitié de l'incubation et de la réduction du poids corporel constatée à la fin de la 3^e semaine. Les travaux de BETZ (1968) ont apporté des précisions sur cette question : la croissance des embryons hypophysectomisés serait indépendante de l'ingestion d'albumine, par contre la croissance additionnelle observée en présence d'hormones hypophysaires dépendrait de l'absorption alimentaire.

β Sur le développement et la physiologie de différents
organes

Cette question a fait l'objet de plusieurs études, notamment de HINNI et WATTERSON (1963) et BETZ (1967). Les embryons hypophysectomisés présentent des troubles divers: rétention d'eau, peau mince et transparente, duvet rare dont la croissance est ralentie (GOERINGER, 1959; BETZ, 1967; JOHNSON, 1968). Les troubles du développement du duvet se manifestent au niveau ultrastructural (YATVIN, 1966 a et b).

Pour BETZ (1967) l'hypophysectomie entraîne des perturbations dans la vascularisation à divers niveaux: réduction de l'irrigation chorio-allantoïdienne, diminution du nombre et du diamètre des vaisseaux vitellins, retard dans la mise en place de la vascularisation de la thyroïde; ce dernier point a également été étudié par THOMMES (1958).

Les embryons décapités montrent une réduction dans le développement du duodenum (HINNI et WATTERSON, 1963; BETZ, 1967; BELLWARE et BETZ, 1970) et une splénomégalie (CASE, 1951; KÖNIGSBERG, 1954; VOGEL, 1956, 1957; EBERT, 1957; BETZ, 1967).

La charge en glycogène de différents organes est perturbée chez les embryons hypophysectomisés; L'accumulation du glycogène hépatique est plus importante (KÖNIGSBERG, 1954; DAUGERAS, 1969). La quantité de glycogène dans la membrane vitelline est également affectée (THOMMES et AGLINSKAS, 1966), il en serait de même pour le corps glycogénique selon WATTERSON et coll. (1958). Par contre, pour THOMMES et JUST (1966) le corps glycogénique ne montrerait pas de modifications chez l'embryon hypophysectomisé.

Il faut remarquer que, si l'hypophysectomie retentit sur le développement de nombreux organes, il est difficile d'attribuer les perturbations observées à la carence d'une hormone déterminée. Les troubles observés au niveau de la peau peuvent être reliés à une déficience en thyroxine (BARTELS, 1944; JOHNSON, 1968), l'hydrocortisone stimule la kératinisation in vitro (SUGIMOTO et ENDO, 1969). La différenciation du duodenum est stimulée in vivo et in vitro par des hormones corticoïdes (MOOG et RICHARDSON, 1955) et l'ACTH exerce la même action in vivo (MOOG et FORD, 1957). Toutefois BELLWARE et BETZ (1970) envisagent d'après une revue bibliographique et des études personnelles, un rôle de la thyroxine, de l'hormone somatotrope et également de la prolactine; ces auteurs déclarent, par ailleurs que, bien que non démontrée, une action pourrait être exercée par des hormones sexuelles. Quant au problème du métabolisme du glycogène chez l'embryon, il semble qu'il soit également sous la dépendance d'hormones diverses: pancréatiques, surrénaliennes, thyroïdiennes (THOMMES et coll., 1964, 1966, 1968, 1969) et sous l'influence d'hormones hypophysaires thyroïdienne et somatotrope en particulier.

Y Sur les glandes endocrines

Pour WOLFF et STOLL (1937) l'hypophysectomie ne retentit pas sur le développement des autres glandes endocrines. Toutefois des modifications diverses de ces glandes ont été décrites par de nombreux auteurs.

- Sur la thyroïde.

Les embryons hypophysectomisés montrent des thyroïdes dont le développement est fortement perturbé: de poids réduit et de petite taille, elles ne sécrètent de la colloïde que tardivement. La colloïde peut même faire défaut et la glande a un aspect parenchymateux (FUGO, 1940; MARTINDALE, 1941; THOMMES, 1958; BETZ, 1967; BRASCH et BETZ, 1971). L'hypophysectomie diminue la fixation d'iode (MARAUD, STOLL et BLANQUET, 1957; MESS et STRAZNICKY, 1964), cette réduction n'apparaît toutefois qu'à partir du 13^e jour de l'incubation (MARAUD et coll., 1957). La vascularisation de la thyroïde qui, en l'absence d'hypophyse, évolue normalement jusqu'au 11^e jour de l'incubation, est ensuite retardée et elle est plus abondante chez les embryons décapités que chez les embryons normaux (THOMMES, 1958; BETZ, 1967).

- Sur la surrénale.

Pour WOLFF et STOLL (1937) et pour FUGO (1940) l'hypophysectomie ne modifie pas le développement des surrénales. Par contre, selon CASE (1951) BETZ (1967), BRASCH et BETZ (1971), l'hypophysectomie entraîne une réduction de la taille et du poids des surrénales, les cordons corticaux sont particulièrement affectés. Le taux d'acide ascorbique est fortement abaissé (CASE, 1951). Le contenu lipidique est réduit, bien que les cellules soient hypertrophiées. Par ailleurs, des décapitations tardives, effectuées entre 8 et 15 jours d'incubation selon la méthode de IDELMAN (1967) ont permis à ADJOVI et IDELMAN (1969) et à ADJOVI (1970) de constater que le retard dans le développement des cordons corticaux s'accompagnait d'une diminution du taux de cholestérol. Toutefois, les résultats varient en fonction du stade de la décapitation et du temps écoulé après l'intervention. Une "récupération" peut intervenir, elle traduirait une certaine autonomie de la surrénale.

- Sur les gonades.

Comme WOLFF et STOLL (1937), VAN DETH et coll. (1956) n'observent pas de modifications dans le développement des gonades. Par contre, pour FUGO (1940), VENZKE (1943), VOGEL (1956), BETZ (1967), BRASCH et BETZ (1971), l'hypophysectomie retentit sur le développement de l'ovaire et des testicules. L'ovaire présente une réduction de taille évaluée à 20 % par BRASCH et BETZ (1971), qui précisent que le développement relatif du cortex par rapport à celui de la medulla est nettement diminué. Les testicules montrent une réduction du tissu interstitiel et de la taille des cordons sexuels.

Chez l'embryon de canard, l'activité hormonale de l'ovaire est perturbée par la décapitation. La syrinx et le tubercule génital évoluent selon le type neutre ou le type mâle, comme cela est le cas chez les embryons castrés (KINYON et WATTERSON, 1958). Les travaux de AKRAM et WENIGER (1969) montrent qu'il n'en est pas de même chez l'embryon de poulet. Ces auteurs prélèvent entre le 18e et le 20e jour de l'incubation les gonades d'embryons décapités précocement; ils associent in vitro les testicules à des canaux de Müller femelles de 7 ou 8 jours et les ovaires à des testicules de 7 ou 8 jours. Les canaux de Müller régressent et les testicules se féminisent, comme cela est le cas lorsque les gonades sont prélevées chez des embryons entiers. AKRAM et WENIGER concluent à une autonomie au moins partielle de la sécrétion hormonale des gonades vis-à-vis de l'hypophyse.

D'après WOODS et WEEKS (1969) l'activité de la $\Delta^5 - 3 \beta$ -hydroxystéroïde-déshydrogénase des gonades embryonnaires est affectée par l'hypophysectomie à partir de 13 jours et demi d'incubation et c'est à ce stade qu'ils situent l'établissement de l'axe hypophyso-gonadique.

b. - Influence de la greffe de l'adénohypophyse embryonnaire ou de l'injection d'hormones sur l'embryon hypophysectomisé.

α . Sur la survie et le poids corporel.

En greffant des adénohypophyses, prélevées chez des embryons de 10 jours, dans la chorio-allantoïde d'embryons hypophysectomisés, BETZ (1967) constate que le taux de survie, à 20 jours, des embryons hypophysectomisés et greffés est de 60 %, alors qu'il n'est que de 6 % dans le cas des embryons hypophysectomisés non greffés. Le taux est de 72 % pour les embryons normaux.

Le poids corporel des embryons hypophysectomisés qui est, selon BETZ (1967) de 45 % de celui des embryons normaux, atteint 63 % dans le cas des embryons hypophysectomisés greffés.

Les expériences de BRASCH et BETZ (1971), sur lesquelles nous reviendrons et qui consistent à greffer différentes parties de l'adénohypophyse prélevée chez des poussins de 1 jour, ont confirmé ces résultats.

β . Sur le développement de différents organes.

Les troubles de la différenciation des différents organes que nous avons précédemment énumérés sont partiellement ou totalement corrigés par la greffe d'adénohypophyses entières prélevées au stade de 10 jours d'incubation (BETZ, 1967) ou par la greffe de fragments d'adénohypophyses prélevées chez des poussins de 1 jour (BRASCH et BETZ, 1971).

γ . Sur les glandes endocrines.

Les greffes d'adénohypophyses pratiquées par BETZ (1967) rétablissent la différenciation normale de la thyroïde, de la surrénale et des gonades des embryons hypophysectomisés par décapitation. Ce résultat a été confirmé par BRASCH et BETZ (1971) qui ont, par ailleurs, pu préciser la localisation des diverses activités physiologiques manifestées par l'adénohypophyse du poussin de 1 jour. BRASCH et BETZ ont subdivisé les adénohypophyses en 3 segments: une partie moyenne comportant des cellules du lobe céphalique et des cellules du lobe caudal, un segment correspondant au lobe céphalique et un segment correspondant au lobe caudal. Chacun de ces segments a été greffé dans la chorio-allantoïde d'embryons hypophysectomisés âgés de 10 jours et demi. L'étude histologique des glandes endocrines a permis d'attribuer à chacun des segments adénohypophysaires un certain nombre d'activités physiologiques. Les sécrétions d'ACTH, de TSH et de FSH seraient pour BRASCH et BETZ associées à la région céphalique; une activité présumée LH serait due au lobe caudal. L'activité STH se manifesterait dans l'ensemble des 2 lobes. Aucune indication n'a pu être obtenue en ce qui concerne l'existence et la localisation de la sécrétion de prolactine et de MSH.

Les thyroïdes d'embryons hypophysectomisés par décapitation, greffées dans la membrane chorio-allantoïdienne d'embryons normaux, ont leur développement stimulé par l'adénohypophyse des embryons hôtes (MARTINDALE, 1941).

Des injections de thyroxine ou d'extraits thyroïdiens (FUGO, 1940; MESS et STRAZNICKY, 1964) stimulent la thyroïde des embryons hypophysectomisés.

Les injections d'ACTH pratiquées chez l'embryon décapité par ADJOVI et IDELMAN (1969) et ADJOVI (1970) permettent aux surrénales d'atteindre le même développement que chez l'embryon normal, le nombre des cellules corticales est restauré. Par contre, le taux de cholestérol libre s'abaisse après l'injection d'ACTH plus encore que chez l'embryon décapité.

WOODS et WEEKS (1969) ont pratiqué chez des embryons hypophysectomisés de 9 jours et demi des greffes chorio-allantoïdiennes d'adénohypophyses prélevées chez des embryons âgés de 9 jours et demi à 10 jours et demi. L'activité de la $\Delta 5 - 3 \beta$ - hydroxystéroïde-deshydrogénase, partiellement rétablie dès 14 jours et demi ou 15 jours et demi, l'est complètement à partir de 16 jours et demi.

L'injection de gonadotrophine (VOGEL, 1956) permet de restaurer un taux normal de cholestérol dans les gonades des embryons hypophysectomisés.

c. - Influence de la greffe de glandes endocrines et de l'injection d'hormones ou de diverses substances sur l'embryon normal.

L'injection d'hormone somatotrope (HSIEH et coll., 1952) provoque une augmentation du poids corporel des embryons qui reste peu importante (inférieure à 10 %).

Des greffes chorio-allantoïdiennes d'adénohypophyses prélevées à différents stades ont été effectuées chez l'embryon normal par STUDITSKII (1946). Cet auteur a pu ainsi observer une stimulation des thyroïdes de l'embryon hôte. TIXIER-VIDAL (1958) a obtenu les mêmes résultats.

Les injections d'hormone thyrotrope provoquent une diminution de la colloïde (WOODSIDE, 1937; ARON, 1939).

La thyroxine injectée chez l'embryon normal modifie son développement: la résorption du sac vitellin est accélérée et l'éclosion est avancée. Par ailleurs, dès le 10^e jour de l'incubation, les cellules APS positives de l'adénohypophyse se montrent sensibles à la thyroxine exogène: elles entrent dans une phase de repos sécrétoire qui est suivie d'un arrêt de la différenciation de la thyroïde jusqu'à 17 jours, bien que la date d'apparition de la colloïde ne soit pas modifiée (VIDAL, 1953; TIXIER-VIDAL, 1958).

L'injection d'antithyroïdiens (thiourée, thiouracil) provoque une hypertrophie de la thyroïde, les vésicules sont volumineuses, l'épithélium est haut, la colloïde montre de nombreuses vacuoles de résorption et se raréfie (ADAMS et BULL, 1949; ADAMS et BUSS, 1952 ; VIDAL, 1952 ; TIXIER-VIDAL, 1958 ; KINGSBURY et coll., 1955 ; ROMANOFF et LAUFER, 1956 ; MITSKEVICH, 1957; KONIGSBERG, 1958). L'action des substances antithyroïdiennes a de nombreuses conséquences sur la physiologie générale de l'embryon : le poids corporel est abaissé, le développement du plumage est perturbé (DOMM et BLIVAISS, 1944; MITSKEVICH 1957 ; JOHNSON, 1968), ainsi que la morphogenèse du duodenum (MOOG, 1961; STOCUM, 1966). Le cortex des glandes surrénales est atrophié, la zone médullaire est, par contre, hypertrophiée (KINGSBURY et coll., 1955). Pour ROMANOFF et LAUFER (1956) le poids de l'ovaire est diminué, celui des testicules et des surrénales est augmenté. La plupart des troubles consécutifs au blocage de la glande thyroïde se retrouvent chez les embryons hypophysectomisés. L'influence des injections de thyroxine et d'antithyroïdiens sur la cytologie adénohypophysaire a été étudiée par TIXIER-VIDAL (1958). Sous l'influence de la thyroxine exogène les cellules APS positives stockent tout d'abord leurs sécrétions, puis elles entrent dans une phase de repos, elles sont petites et pâles, leur nombre ne varie pas. Au contraire, sous l'influence de la thiourée, l'activité sécrétrice des cellules APS positives augmente, ainsi que leur nombre.

GROENDIJK-HUIJBERS (1960, 1968) greffe soit dans le plafond du 4e ventricule, soit dans la paroi abdominale d'embryons de poulet âgés de 4 ou 5 jours, plusieurs adénohypophyses prélevées chez des embryons de 10 à 18 jours. Cet auteur observe une hypertrophie de l'ovaire accompagnée d'une dégénérescence kystique. Le même phénomène est obtenu en injectant de l'hormone thyroïdienne dans l'allantoïde. (GROENDIJK-HUIJBERS, 1968).

Des expériences de greffes d'adénohypophyse d'embryons de poulet ou d'injections de broyats adénohypophysaires ont également été effectuées chez des animaux appartenant à d'autres classes de Vertébrés (Batraciens, Reptiles, Mammifères). CHEN, OLDHAM et GEI LING (1940) mettent en évidence une activité MSH dans l'adénohypophyse d'embryons âgés de 5 jours en injectant à des grenouilles hypophysectomisées un broyat adénohypophysaire. Ce résultat a été confirmé par RAHN et DRAGER (1941) en pratiquant des injections d'extraits adénohypophysaires à un lézard.

ENEMAR (1967) greffe chez des têtards de grenouille soit le lobe céphalique, soit le lobe caudal d'adénohypophyses prélevées chez des embryons de poulet âgés de 13 à 18 jours. La croissance des têtards est stimulée seulement lorsqu'ils ont reçu en greffe des lobes caudaux provenant d'embryons âgés d'au moins 15 jours. Pour ENEMAR cette action ne peut être rapportée qu'à la sécrétion d'hormone somatotrope par les cellules A1 au cours de la 3e semaine de l'incubation.

La présence d'hormones gonadotrope et corticotrope dans l'adénohypophyse d'embryons de poulets de 18 jours a été mise en évidence par MOSZKOWSKA (1949), en injectant un broyat d'adénohypophyses à des cobayes.

Des injections d'ACTH effectuées par MOOG et FORD (1957) et par CASTANE-DECOUD et coll. (1964) ont montré que le cortex surrénalien est sensible précocement à cette hormone, vers la fin de la première semaine d'incubation.

d. - Expériences de culture in vitro.

Les expériences de culture in vitro réalisées par TIXIER-VIDAL (1955, 1956 a et b, 1957 a et b, 1958) ont montré que l'adénohypophyse présente une certaine capacité d'autodifférenciation et qu'elle est sensible à l'hormone thyroïdienne dès le 6e jour de l'incubation. WOLFF et coll. (1960) ont également obtenu in vitro l'autodifférenciation de la thyroïde à partir de 7 jours.

Pour TIXIER-VIDAL, l'activité thyroïdienne se manifeste dès le 7e jour de l'incubation et elle n'est pas soumise à un contrôle hypothalamique au moins pendant les premiers stades. Les relations hypophyso-thyroïdiennes s'établissent dès le 10e jour de la vie embryonnaire.

En ce qui concerne les gonades, les expériences de culture in vitro effectuées par WOLFF et coll. (1951 a et b, 1952 a, b, c,) montrent que l'hypophyse n'intervient pas dans l'évolution de la gonade en ovaire ou en testicule, résultat qui est en accord avec les observations qui ont été effectuées chez les embryons hypophysectomisés.

Le développement de l'ovaire cultivé in vitro est toutefois stimulé quand il est cultivé au contact d'adénohypophyses embryonnaires (MOSZKOWSKA, 1956, 1958). L'activité gonadotrope apparaît toutefois assez faible, il est en effet nécessaire d'associer à l'ovaire les lobes céphaliques de plusieurs adénohypophyses pour obtenir une stimulation. Les lobes caudaux exercent une action faible ou nulle sur le développement de l'ovaire. La présence de l'hypothalamus ne favorise pas la stimulation de l'ovaire, bien qu'elle entraîne une augmentation du nombre des cellules APS positives (MOSZKOWSKA, 1958).

Les cultures in vitro de glandes endocrines effectuées par PEDERNERA (1968) ont confirmé que le cortex surrénalien est sensible dès le 6e jour de l'incubation à l'action de l'ACTH. Des inclusions lipidiques ont été mises en évidence dans les cellules corticales par GRIGNON et coll. (1966, 1967) à ce même stade. La microscopie électronique a permis de distinguer dans l'adénohypophyse, le 6e jour de l'incubation, 2 types cellulaires par la morphologie de leurs grains. Cette observation, effectuée par GRIGNON et coll. (1966, 1967) a été mise en parallèle avec l'établissement des fonctions corticotrope et thyroïdienne.

Des données bibliographiques relatives à la physiologie adénohypophysaire de l'embryon de poulet que nous venons d'exposer, il ressort que :

- L'adénohypophyse est indispensable à la croissance normale de l'embryon.

- L'absence d'adénohypophyse se manifeste au niveau de nombreux organes et particulièrement à celui des glandes endocrines.

- L'injection d'hormones ou la greffe d'adénohypophyses embryonnaires rétablit au moins partiellement le développement de l'embryon et la différenciation des glandes endocrines. Ce résultat a été obtenu en greffant des adénohypophyses prélevées à différents stades de l'incubation, mais en tout état de cause après le 6e jour de l'incubation, stade de la différenciation des premiers types cellulaires.

- Ces résultats ont amené différents auteurs à envisager ou à admettre la sécrétion par l'adénohypophyse embryonnaire d'hormones somatotrope, thyroïdienne, corticotrope, gonadotrope et mélanophorotrope.

Ces différentes activités ont été reliées à titre d'hypothèse à des catégories cellulaires. La plupart des auteurs sont en accord avec GRIGNON (1956) pour considérer que l'activité thyroïdienne serait due aux cellules APS positives qui se différencient le 6e ou le 7e jour au niveau du lobe céphalique ; l'activité gonadotrope serait due aux grandes cellules APS qui apparaissent vers le 14e jour de l'incubation dans la région ventrale du lobe céphalique. Les cellules acidophiles céphaliques A2 seraient responsables de la sécrétion d'ACTH et les cellules acidophiles caudales A1 seraient les cellules somatotropes.

Il convient de remarquer toutefois que l'attribution de ces activités à différentes catégories cellulaires est basée sur l'observation d'un certain parallélisme entre l'apparition des premiers signes de fonctionnement des glandes effectrices et la différenciation des types cellulaires. Des corrélations précises entre les catégories cellulaires adénohypophysaires et la physiologie des glandes effectrices n'ont que rarement été établies. A cet égard, la nature thyroïdienne des cellules APS positives du lobe céphalique (ou au moins de certaines d'entre elles) paraît démontrée par le fait qu'elles se montrent sensibles aux injections de thyroxine et d'antithyroïdiens.

B. - EXPERIENCES PRELIMINAIRES.

=====

Au cours d'expériences préliminaires, nous avons étudié le comportement de l'ébauche adénohypophysaire en l'absence de mésenchyme lorsqu'elle est cultivée in vitro, ou placée en greffe coelomique.

La culture in vitro, en l'absence de mésenchyme, de l'ébauche isolée ou associée au tissu nerveux du plancher encéphalique ne permet pas d'obtenir une évolution notable. Nous avons cultivé des ébauches prélevées à des stades échelonnés de 20 somites à 4 jours d'incubation. Trois techniques de culture ont été utilisées: la culture sur le milieu enrichi en sérum de Wolff et Haffen (1952a) la culture sur membrane vitelline placée sur le même milieu (Wolff et Haffen, 1952a) et également la culture dans le milieu liquide de Rinaldini (1959). Cette dernière méthode a été employée pour la culture des ébauches prélevées aux plus jeunes stades et préalablement associées sur milieu gélosé à du tissu nerveux provenant du plancher encéphalique. 83 cultures ont été effectuées, elles ont duré de 2 à 5 jours; les coupes histologiques nous ont permis de constater que, en l'absence de mésenchyme, l'ébauche adénohypophysaire n'évolue pas ou ne le fait que peu, même en présence de tissu nerveux; les explants tendent à se désagréger, la partie centrale montre souvent des cellules nécrotiques. Par contre, au contact d'un mésenchyme, l'ébauche adénohypophysaire prolifère et évolue (Planche XII, Fig. 1).

Placée en greffe coelomique, de telle sorte qu'elle n'adhère pas à la paroi de l'embryon, l'ébauche adénohypophysaire prélevée aux mêmes stades, de 20 somites à 4 jours d'incubation, peut survivre, mais elle n'évolue pas. 19 greffes ont été effectuées, 11 greffons ont pu être retrouvés grâce au charbon animal placé à leur surface au moment de la greffe; dans la plupart des greffons, nous n'avons retrouvé que du tissu fibreux.

Les résultats obtenus en cultivant ou en greffant l'ébauche adénohypophysaire en l'absence de mésenchyme confirment ceux de SOBEL (1958) qui a montré en prélevant cette ébauche à un stade plus tardif, que la présence de mésenchyme est absolument indispensable à son évolution.

L'étude des relations épithélio-mésenchymateuses a été effectuée dans le cas de nombreux organes. Citons par exemple: les glandes salivaires (GROBSTEIN, 1953), le métanéphros (GROBSTEIN, 1953, 1955; CALAME, 1961, BISHOP-CALAME, 1966), le membre (ZWILLING, 1955; HAMPE, 1956; KIENY, 1960), la peau et ses annexes (SENGEL, 1958; GOMOT, 1958), le thymus (AUERBACH, 1960), le poumon (DAMERON, 1961, 1968; ALESCIO et CASSINI, 1952), le proventricule (SIGOT, 1962), le foie (N. LE DOUARIN, 1963 a et b, 1964, 1967; N. LE DOUARIN et CHAUMONT, 1966; HOUSSAINT et N. LE DOUARIN, 1968, FONTAINE, 1971), la glande mammaire (PROPPER et GOMOT, 1967; KRATOCHWILL, 1968; PROPPER, 1970), la thyroïde (LE LIEVRE, 1969; LE LIEVRE et LE DOUARIN, 1970), le pancréas (DIETERLEN-LIEVRE, 1970). D'une façon générale, ces travaux montrent que dans une ébauche mixte, la composante épithéliale, comme d'ailleurs la composante mésenchymateuse, ne peuvent se différencier comme elles le font in situ, lorsqu'elles sont isolées.

L'action exercée par le mésenchyme varie selon les organes. Dans certains cas, seul le mésenchyme homologue peut exercer une action morphogène, dans d'autres cas différents mésenchymes sont susceptibles d'exercer cette action morphogène à des degrés divers, cette action pouvant dépendre de l'âge de l'ébauche et de l'âge du mésenchyme considérés; certains mésenchymes enfin ne permettent pas l'évolution de l'ébauche épithéliale.

L'étude des relations épithélio-mésenchymateuses dans le cas des ébauches endodermiques du foie, du poumon, du pancréas par exemple, a permis de constater que les mésenchymes ventraux étaient favorables à l'évolution de ces ébauches, les mésenchymes dorsaux et le mésenchyme chorio-allantoïdien s'avérant dans tous les cas défavorables.

La poche de Rathke étant d'origine ectodermique et dorsale, nous avons choisi les différents mésenchymes auxquels elle a été associée, en envisageant la possibilité de l'existence, dans le cas de cette ébauche, d'un "gradient" inverse de celui existant pour les ébauches ventrales. Nous avons donc choisi des mésenchymes axiaux (céphalique homologue et hétérologue et somitique), du mésenchyme de bourgeon de membre, des mésenchymes ventraux (somatopleure, gésier, ven-

PLANCHE XI

Schéma général du prélèvement et de la greffe de l'ébauche adénohypophysaire.

- Fig. 1 - Après avoir été incubée dans une solution de trypsine, la tête d'un embryon de poulet est lavée dans du sérum de poulain dilué avant d'être disséquée. Un fragment de mésenchyme, accompagné d'ectoderme est prélevé en arrière de l'oeil.
- Fig. 2 - Le mésenchyme céphalique hétérologue est séparé de l'ectoderme et placé sur un milieu de culture. Différents mésenchymes ont été utilisés, ils ont pour la plupart été séparés des tissus épithéliaux par la même technique.
- Fig. 3 - L'ébauche adénohypophysaire (poche de Rathke et poche de Seessel) est isolée du plancher diencéphalique. Dans certaines séries expérimentales la poche de Rathke et la poche de Seessel ont été séparées l'une de l'autre.
- Fig. 4 - L'ébauche adénohypophysaire est associée in vitro, pendant 20 à 24 heures, à un fragment de mésenchyme, il s'agit ici de mésenchyme céphalique hétérologue.
- Fig. 5 - L'explant obtenu in vitro est placé en greffe coelomique chez un embryon âgé de 3 jours à 3 jours 1/2. La durée de la greffe est généralement de 13 à 14 jours.
- Fig. 6 - L'ébauche adénohypophysaire, séparée du plancher encéphalique, est placée directement en greffe chorio-allantoïdienne chez un embryon âgé le plus souvent de 6 jours.

ALL : allantoïde ; Ect : ectoderme ; M : mésenchyme ; Pl : plancher encéphalique
PR : poche de Rathke ; PS : poche de Seessel.

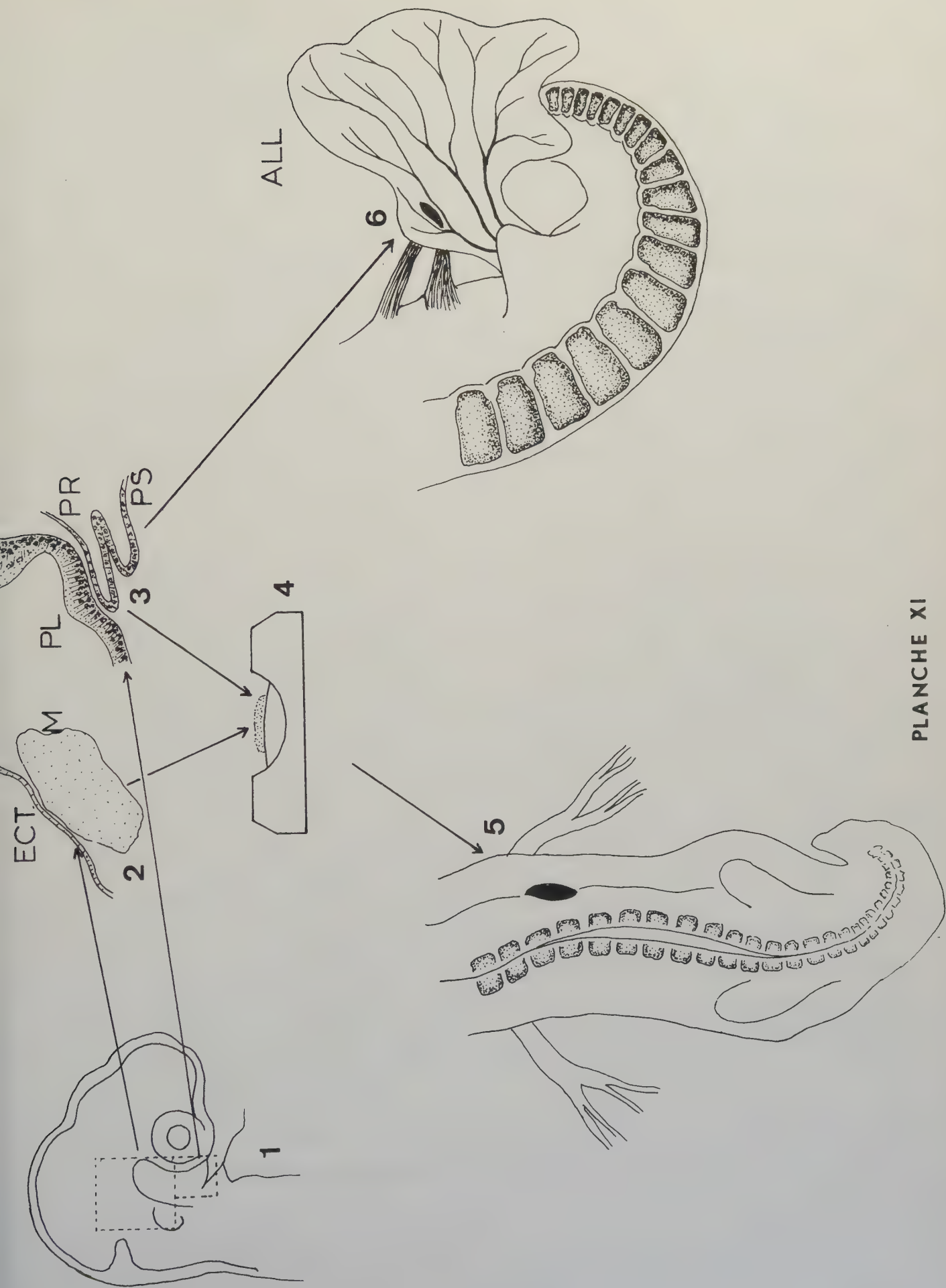


PLANCHE XI

tricule succenturié et poumon) et enfin un mésenchyme "neutre", celui de la chorio-allantoïde. La planche XI montre le schéma général des expériences.

L'évolution de l'ébauche épithéliale isolée précocement, avant le stade de 25 somites, a été étudiée en l'associant uniquement à des mésenchymes axiaux.

Le mésenchyme céphalique homologue a été séparé de l'ébauche adénohypophysaire et de la chorde dorsale après action de la trypsine; le mésenchyme hétérologue a été prélevé sur le côté de la tête en arrière de l'oeil. Le mésenchyme somitique a été prélevé à différents niveaux du tronc entre la base des membres antérieurs et la base des membres postérieurs; les somites sont isolés facilement par groupe de 3 ou 4 après action de la trypsine. L'évolution de la poche de Rathke, prélevée chez des embryons âgés de 3 ou 4 jours et associée à des mésenchymes axiaux provenant d'embryons âgés de 2 jours et demi (25 somites environ) à 6 jours, nous a permis de constater que les mésenchymes provenant d'embryons âgés de 3 jours et demi à 4 jours se montraient les supports les plus favorables (Planche XII, Fig. 4). Nous ne pensons pas que ce soit la qualité du mésenchyme du point de vue biochimique qui soit en cause, mais plutôt ses qualités physiques. L'ébauche adénohypophysaire s'associant mal avec les mésenchymes jeunes qui sont, après traitement par la trypsine, assez mous, les explants sont difficiles à greffer et la vascularisation semble s'établir difficilement. Dans le cas des mésenchymes axiaux, prélevés chez des embryons âgés de 5 ou 6 jours, les associations s'effectuent au contraire très bien, mais le développement rapide de pièces cartilagineuses peut nuire à celui de la poche de Rathke (Planche XII, Fig. 2 et 3).

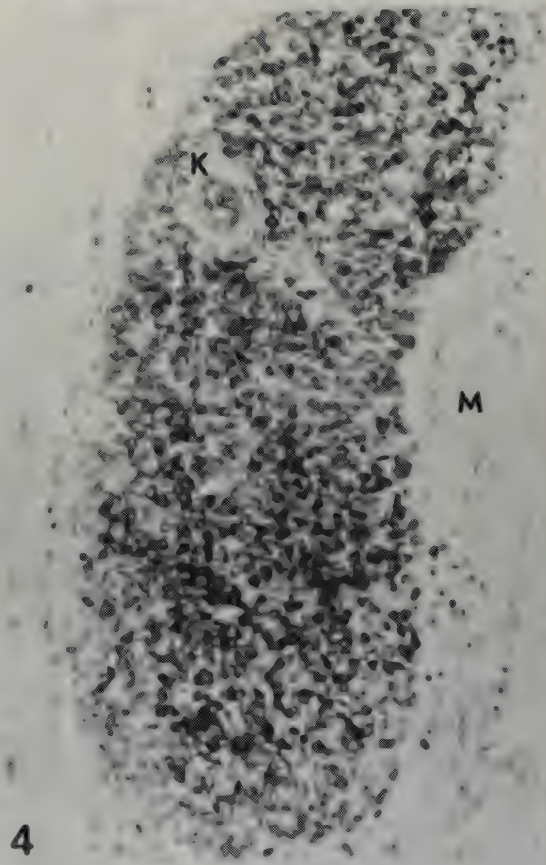
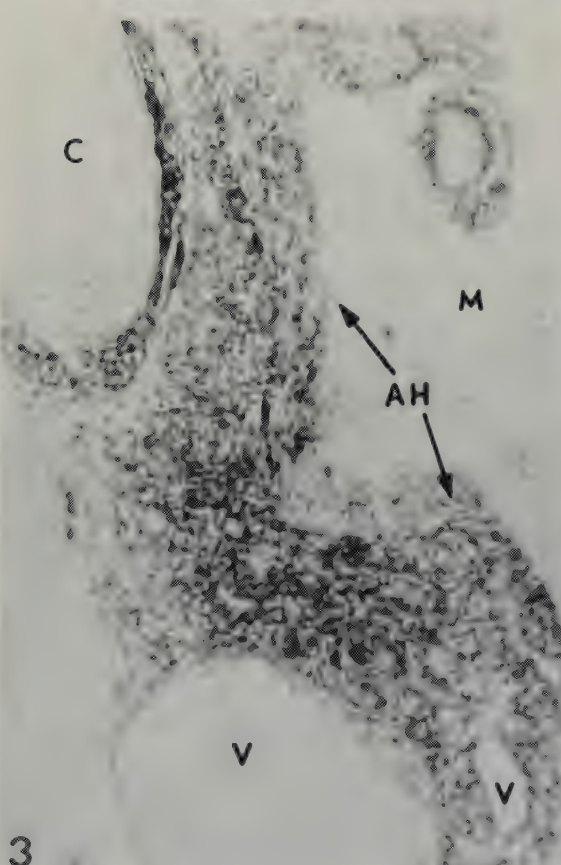
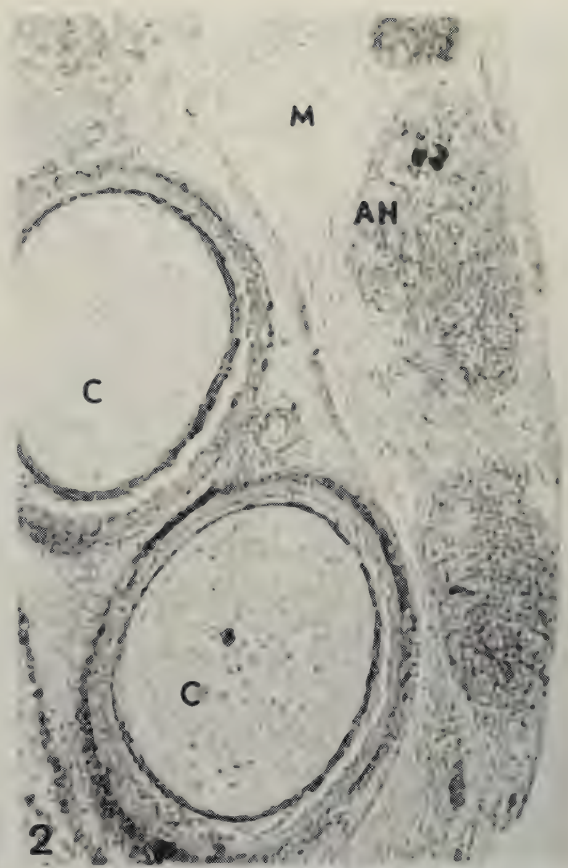
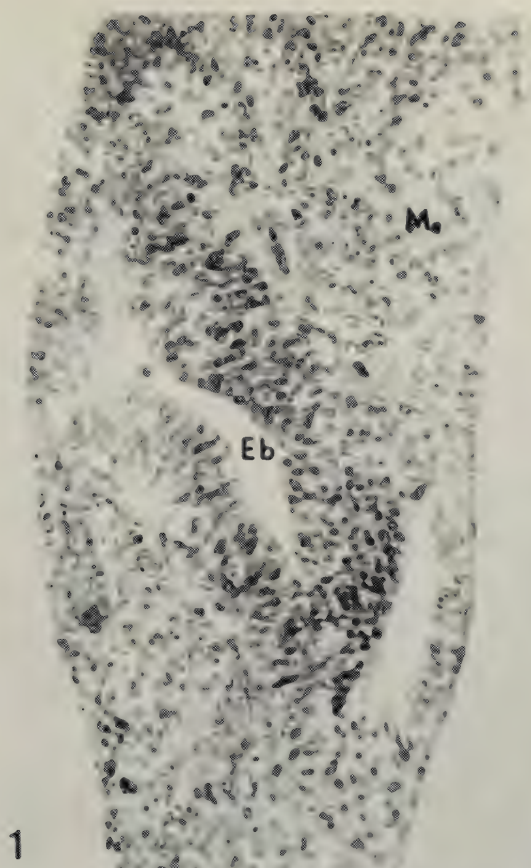
Les bourgeons de membre ont été prélevés chez des embryons âgés de 3 jours 1/2 environ (stades 20 ou 21 de HAMBURGER et HAMILTON). Les bourgeons de membre antérieur ont été utilisés en entier, ceux de membre postérieur ont été soit également employés en entier, soit soumis à l'action de la trypsine et séparés de l'ectoderme.

Le mésenchyme de la somatopleure a été obtenu en découpant un volet au niveau de la partie moyenne du tronc chez des embryons âgés de 3 jours et demi.

PLANCHE XII
(Embryon de poulet)

- Fig. 1 - Ebauche adénohypophysaire (poche de Rathke et poche de Seessel) prélevée chez un embryon de poulet âgé de 3 jours et associée in vitro à du mésenchyme céphalique hétérologue pendant 36 heures. L'ébauche épithéliale a proliféré et s'est soudée au mésenchyme. Au cours de nos expériences, la greffe coelomique a été précédée par une culture in vitro qui n'a pas excédé 24 heures. Hématoxyline et éosine. G x 260.
- Fig. 2 - L'ébauche épithéliale de l'adénohypophyse, prélevée chez un embryon de 3 jours 1/2, a été associée in vitro à du mésenchyme céphalique hétérologue fourni par un embryon âgé de 5 jours. L'ébauche a proliféré ; des pièces cartilagineuses importantes se sont formées comme cela est le cas dans les mésenchymes prélevés chez des embryons âgés. Cette différenciation de cartilage peut perturber la croissance du tissu adénohypophysaire. APS et hématoxyline. G x 100.
- Fig. 3 - Tissu adénohypophysaire formé à partir d'une ébauche prélevée chez un embryon âgé de 3 jours et associée in vitro à du mésenchyme somitique provenant d'un embryon âgé de 5 jours 1/2. Le tissu adénohypophysaire est dense, il est accompagné de vésicules et d'une pièce cartilagineuse. Tétrachrome. G x 120.
- Fig. 4 - Tissu adénohypophysaire formé à partir d'une poche de Rathke prélevée au stade de 4 jours et associée à du mésenchyme céphalique hétérologue provenant d'un embryon âgé de 3 jours 1/2. L'ébauche a proliféré de façon importante pour former un tissu dense dans lequel on distingue une vésicule kystique. G x 120.

AH : tissu adénohypophysaire ; C : cartilage ; Eb : ébauche adénohypophysaire ;
M : mésenchyme ; V : vésicule ; K : kyste.



Les mésenchymes de gésier, de ventricule succenturié et de poumon ont été obtenus en prélevant sur des embryons de 6 jours les ébauches de ces organes et en les soumettant à l'action de la trypsine, afin d'éliminer les tissus épithéliaux.

L'association avec le mésenchyme de la chorio-allantoïde a été effectuée in ovo par la greffe directe de l'ébauche adénohypophysaire dans la membrane chorio-allantoïdienne.

Les résultats obtenus en étudiant la différenciation en greffe de l'ébauche adénohypophysaire nous ont amenés à distinguer, en fonction du stade du prélèvement de l'ébauche, deux périodes successives. Ces périodes s'articulent au niveau du stade de 25 somites et traduisent les modifications importantes qui interviennent dans les potentialités évolutives de l'ébauche épithéliale de l'adénohypophyse à partir de ce stade. Elles correspondent d'une part à la phase de l'induction ~~embryonnaire~~ et d'autre part à la phase de différenciation autonome de l'ébauche adénohypophysaire. Le problème de la limite de cette différenciation a, par ailleurs, retenu notre attention. Il convenait, en effet, de vérifier que l'hypothalamus n'exerçait aucune influence à distance sur la différenciation de l'ébauche adénohypophysaire et également de voir si la différenciation cytologique obtenue s'accompagnait d'une différenciation fonctionnelle.

C. - ROLE INITIATEUR DU PLANCHER ENCEPHALIQUE: L'INDUCTION DE

L'EBAUCHE EPITHELIALE.

Les expériences que nous allons exposer portent sur des ébauches présomptives ou morphologiquement indiquées, fournies par des embryons à des stades antérieurs à 25 somites (FERRAND, 1969a, 1970b). Dans la plupart des séries expérimentales la poche de Rathke et la poche de Seessel étaient apparentes; toutefois, nous avons utilisé dans quelques cas des embryons à des stades antérieurs à celui de 17 somites et nous avons alors prélevé le diverticule céphalique de l'intestin antérieur qui donne naissance à la poche de Seessel et l'ébauche présomptive de la poche de Rathke située immédiatement en avant de la membrane pharyngienne. L'incubation dans la trypsine a été limitée à 30 minutes. Les ébauches ont été associées à des mésenchymes hétérologues, céphalique ou somitique, du tissu nerveux étant ou non présent. Les greffons ont été recherchés après 14 jours de greffe.

I. Evolution de l'ébauche adénohypophysaire en l'absence de tissu nerveux.

1. Ebauche prélevée chez des embryons de 17 à 24 somites.

L'ébauche adénohypophysaire a été associée à du mésenchyme homologue ou à des mésenchymes hétérologues céphalique et somitique, provenant d'embryons âgés de 3 jours et demi à 4 jours. L'extrémité antérieure de la corde dorsale a été adjointe, dans certaines séries expérimentales, au mésenchyme choisi. Les résultats obtenus (Tableau I) montrent que, quel que soit le type d'association réalisé, l'ébauche ne s'est jamais différenciée en tissu adénohypophysaire. En présence de mésenchyme homologue 10 greffons sur 15 étudiés montrent des vésicules; au contact de mésenchymes hétérologues céphalique ou somitique des vésicules se forment dans 19 greffons sur 22. La présence de la corde, quel que soit le mésenchyme utilisé, ne modifie pas cette évolution en vésicules de l'ébauche: 13 greffons sur les 16 étudiés montrent également des vésicules. Il convient de remarquer que c'est dans le cas où les greffons comportent du mésenchyme homologue que l'ébauche épithéliale a été le moins souvent retrouvée; ce résultat paraît dû non pas à la nature du mésenchyme mais plutôt à sa structure; en effet, après incubation dans

Association réalisée	Nombre de greffons étudiés	Présence de tissu adénohypophysaire	Absence de formations épithéliales	Présence de vésicules
Ebauche més. homologue	15	0	5	10
Ebauche més. hétérologue (somitique ou céphalique)	22	0	3	19
Ebauche més. homologue chorde	7	0	2	5
Ebauche més. hétérologue chorde	9	0	1	8
Ebauche présomptive End. intestin ant. més. hétérologue	8	0	1	7

Tableau I

Evolution de l'ébauche adénohypophysaire en l'absence de tissu nerveux.

la trypsine, le mésenchyme homologue est lâche, il se présente comme les mésenchymes hétérologues jeunes dont nous avons parlé et par suite l'association in vitro avec l'ébauche épithéliale s'effectue mal et l'explant s'avère difficile à greffer.

Quel que soit le type de greffon, les vésicules se présentent de façon comparable ; elles sont généralement nombreuses, de petite taille et leur paroi de type épithélial reste mince. (Planche XIII, Fig. 1).

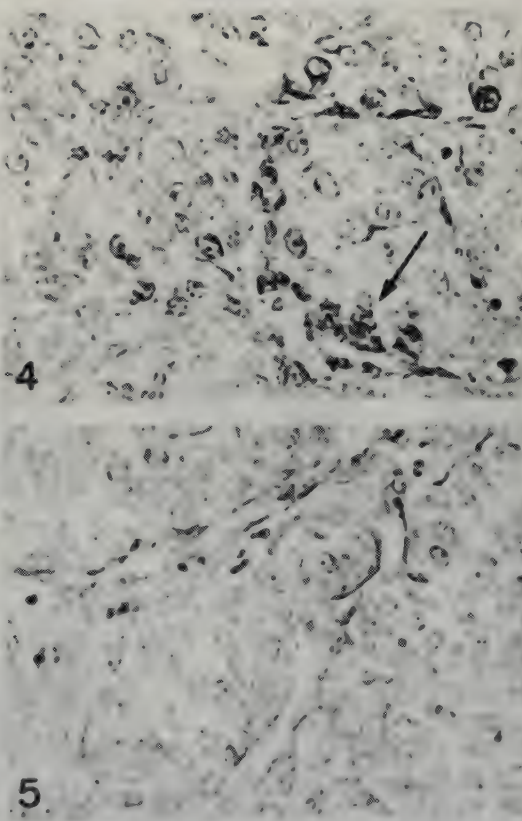
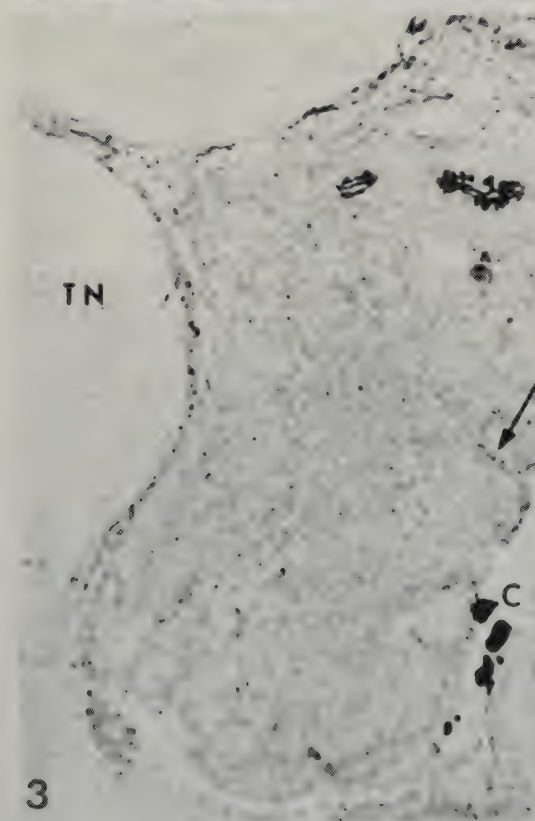
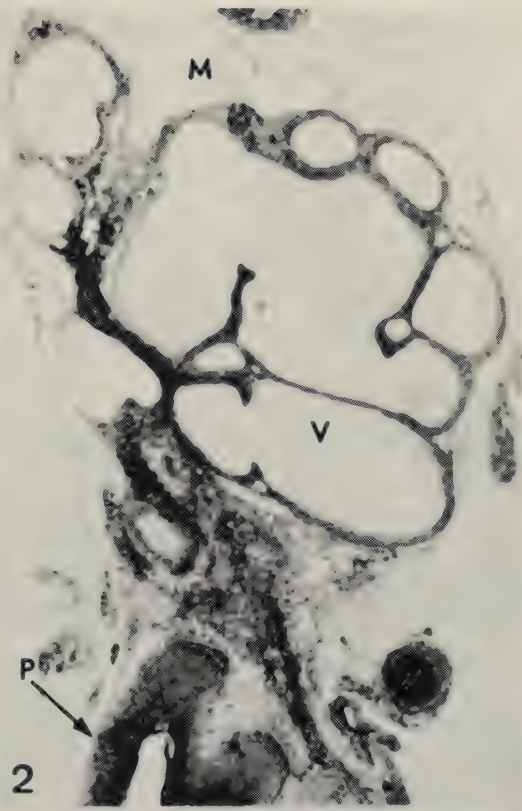
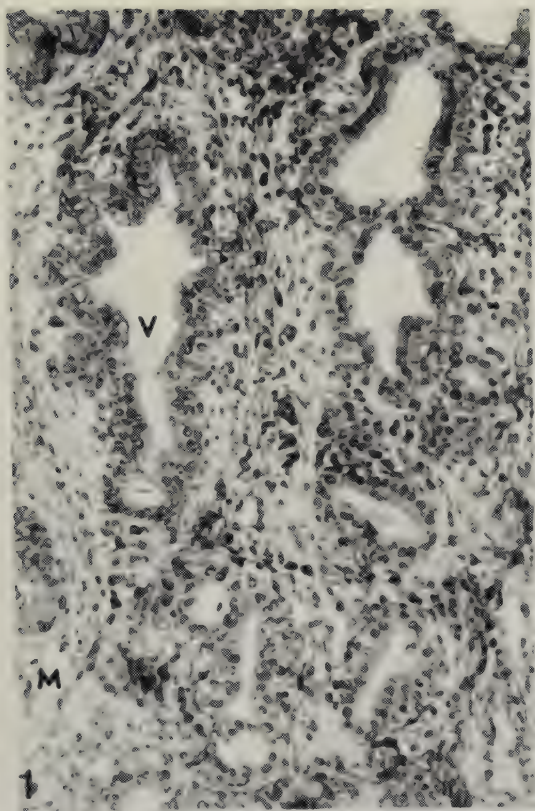
2. Ebauche présomptive prélevée chez des embryons de 12 à 17 somites

Un territoire comprenant l'ectoderme recouvrant la partie antérieure du

PLANCHE XIII
(Embryon de poulet)

- Fig. 1 - La poche de Rathke prélevée chez un embryon de 17 somites et associée in vitro à du mésenchyme céphalique homologue prolifère de façon importante et donne naissance à de nombreuses vésicules. Tétrachrome. G x 240.
- Fig. 2 - L'ectoderme recouvrant le prosencéphale comprenant le territoire adénohypophysaire présomptif et le diverticule céphalique de l'intestin antérieur ont été prélevés chez un embryon âgé de 15 somites et associés in vitro à du mésenchyme céphalique hétérologue. Les tissus épithéliaux ont formé des vésicules à parois minces et de la peau. Tétrachrome. G x 60.
- Fig. 3 - L'ébauche épithéliale adénohypophysaire a été prélevée au stade de 23 somites en étant maintenue au contact du plancher encéphalique. Elle a proliféré et formé du tissu adénohypophysaire dans lequel on peut reconnaître une "zone céphalique" montrant des cellules APS positives et une "zone caudale" qui en est dépourvue. APS. G x 330.
- Fig. 4 - Détail de la figure 3 montrant une zone au niveau de laquelle des cellules APS positives se sont différenciées. Les cellules sont toutefois peu nombreuses et de petite taille. G x 600.
- Fig. 5 - Détail de la figure 3 correspondant à la "zone caudale" dépourvue de cellules APS positives. G x 600.

C : grains de charbons destinés à marquer le greffon ; M : mésenchyme
P : peau ; T N : tissu nerveux du plancher prosencéphalique ; V : vésicules.



procencéphale et le diverticule céphalique de l'intestin antérieur a été isolé chez des embryons à des stades compris entre 10 et 17 somites et associé à du mésenchyme céphalique hétérologue. L'ectoderme étant prélevé largement, l'ébauche adénohypophysaire présomptive était donc nécessairement présente dans le tissu greffé. 8 greffons ont été examinés: dans un seul, aucune formation épithéliale n'a été retrouvée, dans les 7 autres des vésicules à parois minces se sont formées parfois accompagnées par de la peau (Planche XIII, Fig. 2).

II. - Evolution de l'ébauche adénohypophysaire en présence de tissu nerveux.

1. Ebauche maintenue au contact du plancher prosencéphalique.

Après incubation dans la trypsine l'ébauche adénohypophysaire n'a pas été dans cette série expérimentale séparée du plancher encéphalique qui a été prélevé assez largement, les deux tissus ont été associés in vitro à du mésenchyme céphalique (Tableau II). Sur 18 greffons qui ont pu être examinés, 12 ont montré du tissu adénohypophysaire (Planche XIII, Fig. 3, 4, 5) dans lequel des cellules érythrophiles et cyanophiles s'étaient différenciées. Nous n'avons pas observé de cellules orangeophiles. Les cellules cyanophiles ou APS positives ne sont pas nombreuses; le volume du tissu adénohypophysaire est variable. Dans 2 cas seulement on peut reconnaître des zones qui correspondent respectivement au lobe céphalique et au lobe caudal. Parmi les 6 autres greffons, 4 montrent des vésicules, tandis que dans 2 l'ébauche n'a pas été retrouvée. Les vésicules sont du même type que celles qui se forment en l'absence de tissu nerveux, mais elles sont moins nombreuses. Le tissu nerveux se développe de façon importante; il peut montrer des diverticules comparables à ceux qui se forment in situ (Planche XIV, Fig. 1).

2. Ebauche isolée puis réassociée au plancher prosencéphalique.

Dans cette expérience, l'ébauche adénohypophysaire et le plancher prosencéphalique au contact duquel elle se développe sont séparés par action de la trypsine, puis ils sont réassociés au sein d'un mésenchyme céphalique hétérologue. Les associations ont été effectuées indépendamment de l'origine de l'ébauche et du tissu nerveux et de l'âge des embryons sur lesquels les deux tissus ont été prélevés. Dans 14 greffons sur les 19 qui ont pu être étudiés, du tissu adénohypophysaire s'est for-

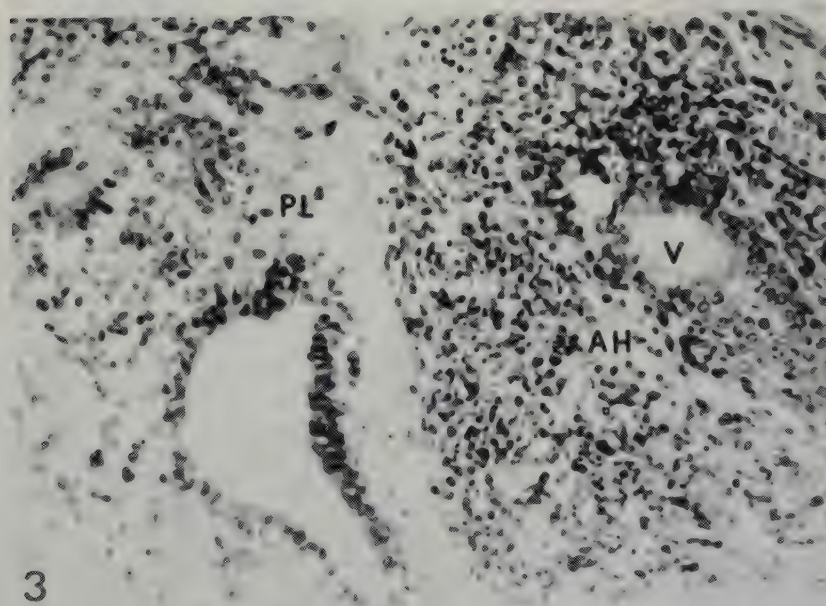
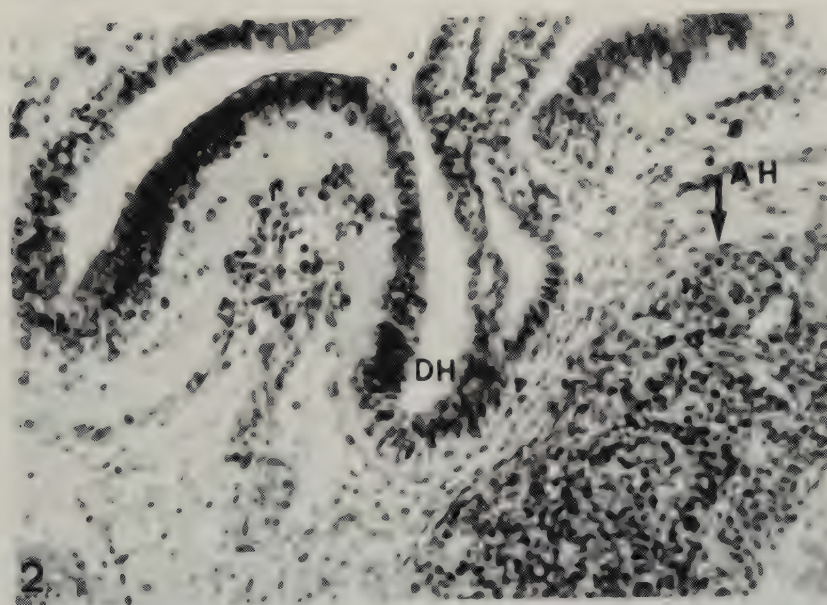
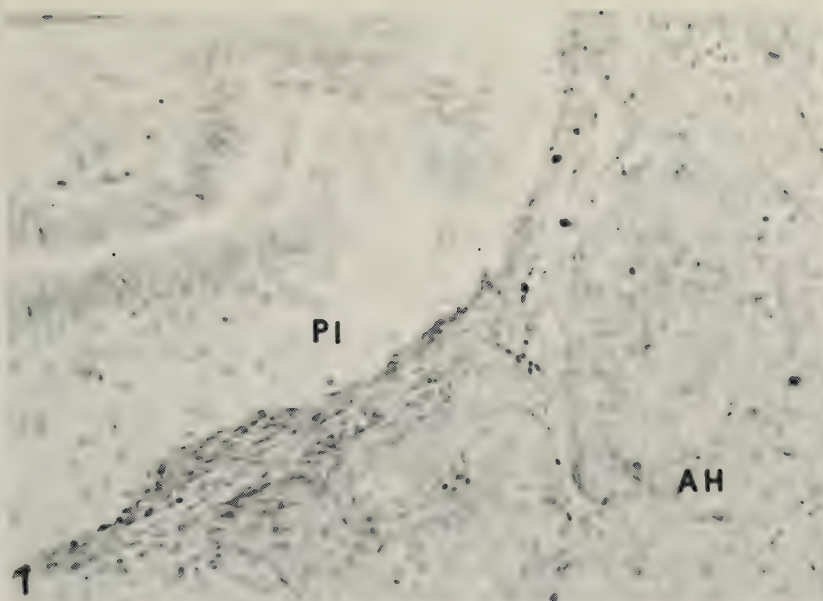
Associations réalisées au contact de mésenchyme céphalique hétérologue	Nombre de greffons examinés	Présence de tissu adénohypophysaire	Absence de tissu adénohypophysaire	
			Absence de formations épithéliales	Présence de vésicules
Ebauche maintenue au contact du plancher prosencéphalique de même âge	18	12	2	4
Ebauche isolée + plan- cher prosencéphalique de même âge	19	14	1	4
Ebauche isolée + plan- cher diencéphalique prélevé au stade de 3 jours	13	6	2	5
Ebauche isolée + plan- cher diencéphalique prélevé au stade de 4 jours	12	2	2	8
Ebauche isolée + frag- ment de voûte du mésen- céphale de même âge	15	0	1	14
Ebauche isolée + plan- cher du rhombencépha- le de même âge	9	0	2	7
Ebauche isolée + tube nerveux de même âge	12	0	2	10
Ebauche isolée + par- tie antérieure du pro- sencéphale de même âge	13	0	3	10

Tableau II
Evolution de l'ébauche adénohypophysaire en présence de tissu nerveux.

PLANCHE XIV
(Embryon de poulet)

- Fig. 1 - L'ébauche épithéliale de l'adénohypophyse a été prélevée sans être séparée du plancher prosencéphalique chez un embryon de 18 somites. L'ébauche a proliféré ; la zone représentée est dépourvue de cellules APS positives. Le tissu nerveux s'est développé et il a formé un diverticule comparable au diverticule hypothalamique qui apparaît in situ. APS et hématoxyline. G x 260.
- Fig. 2 - L'ébauche adénohypophysaire et le plancher prosencéphalique ont été prélevés séparément, au stade de 20 somites, puis réassociés au sein d'un mésenchyme céphalique hétérologue. Du tissu adénohypophysaire s'est différencié ; il constitue un flot dense au voisinage du tissu nerveux. Le tissu nerveux a formé plusieurs diverticules. Tétrachrome. G x 260.
- Fig. 3 - L'ébauche adénohypophysaire a été prélevée chez un embryon de 22 somites et associée, au sein d'un mésenchyme céphalique hétérologue, au plancher diencéphalique prélevé chez un embryon de 3 jours. Du tissu adénohypophysaire s'est différencié, il montre une petite vésicule. Tétrachrome. G x 260.

AH : tissu adénohypophysaire ; DH : diverticule hypothalamique ;
Pl : plancher encéphalique ; V : vésicule.



mé, les types cellulaires se sont différenciés ; toutefois ce tissu est moins développé que lorsque l'ébauche évolue sans avoir préalablement été séparée du tissu nerveux, il est souvent dense et on ne reconnaît pas les structures caractéristiques du lobe céphalique et du lobe caudal. Les cellules APS positives sont présentes mais elles sont parfois peu différenciées, leur localisation varie mais elles sont le plus souvent situées à la périphérie du tissu.

Le nombre de cas où du tissu adénohypophysaire s'est formé est proportionnellement le même que lorsque l'ébauche n'a pas été séparée du plancher encéphalique (Planche XIV, fig. 2). Comme dans l'expérience précédente nous n'avons pas distingué de cellules colorables par l'orange G. Le prélèvement précoce et la durée de la greffe (14 jours) expliquent cette absence. Le tissu formé dans les greffons doit en effet être comparé à l'adénohypophyse d'embryons de 16 jours ou même 15 jours pour tenir compte d'un retard éventuel dans le développement du greffon. On peut considérer que la différenciation obtenue est comparable à celle qui a lieu in situ, la séparation de l'ébauche du tissu nerveux n'a pas empêché la formation de tissu adénohypophysaire mais la prolifération de l'ébauche a été toutefois plus limitée (Tableau II).

3. Ebauche associée au plancher diencephalique prélevé chez des embryons âgés de 3 ou 4 jours.

Après incubation dans la solution de trypsine la poche de Rathke d'embryons aux stades de 3 et 4 jours d'incubation est séparée de la région infundibulaire qui est ensuite prélevée et associée in vitro en présence de mésenchyme céphalique hétérologue, à l'ébauche adénohypophysaire fournie par des embryons de 17 à 24 somites. Du tissu adénohypophysaire s'est formé dans 6 greffons sur 13 quand le tissu nerveux provient d'embryons de 3 jours et dans 2 greffons sur 12 seulement quand le plancher diencephalique est prélevé sur des embryons de 4 jours (Planche XIV, fig. 3) Des cellules basophiles et acidophiles se différencient dans le tissu adénohypophysaire qui ne diffère pas de celui qui apparaît quand le tissu nerveux est prélevé à des stades plus précoces.

4. Ebauche associée à du tissu nerveux autre que le plancher prosencéphalique ou diencephalique.

Qu'elle soit maintenue au contact du plancher prosencéphalique ou qu'elle en soit momentanément séparée, que le tissu nerveux provienne d'embryons de même âge ou d'embryons âgés de 3 ou même 4 jours, l'ébauche adénohypophysaire peut évoluer pour donner du tissu adénohypophysaire. Cette action du tissu nerveux prosencéphalique ou diencephalique est-elle spécifique ou bien des tissus nerveux d'origines diverses peuvent-ils exercer la même action inductrice ? Pour répondre à cette question, nous avons remplacé, dans les associations in vitro le plancher prosencéphalique ou diencephalique soit par un fragment de la voûte du mésencéphale, soit par le plancher du rhombencéphale, soit par une portion de tube neural prélevé dans la région moyenne du tronc, soit enfin par du tissu nerveux provenant du prosencéphale et prélevé immédiatement en avant de la zone de contact entre l'ébauche adénohypophysaire et le plancher encéphalique. Les différents tissus nerveux et les ébauches adénohypophysaires ont été fournis par les mêmes embryons. Les résultats figurant dans le tableau II montrent que, dans aucun des greffons étudiés, nous n'avons trouvé de tissu adénohypophysaire (Planche XV, Fig. 1 à 3) par contre, dans la plupart des cas, des vésicules se sont formées; ces vésicules ne diffèrent pas de celles que nous avons précédemment décrites et qui apparaissent quand l'ébauche évolue en l'absence de tissu nerveux. D'une façon générale, ces vésicules sont beaucoup moins nombreuses quand l'ébauche prolifère au voisinage du tissu nerveux. Il est difficile d'expliquer cette observation, on ne peut exclure une inhibition partielle de la prolifération des tissus épithéliaux exercée par le tissu nerveux de quelque origine qu'il soit; on peut également envisager une action mécanique du tissu nerveux qui, en proliférant de façon souvent importante (Planche XV, Fig. 1), peut plus ou moins entraver le développement des vésicules.

Conclusion.

L'ébauche épithéliale de l'adénohypophyse, isolée avant le stade de 25 somites, n'évolue pas en tissu adénohypophysaire, quels que soient les tissus

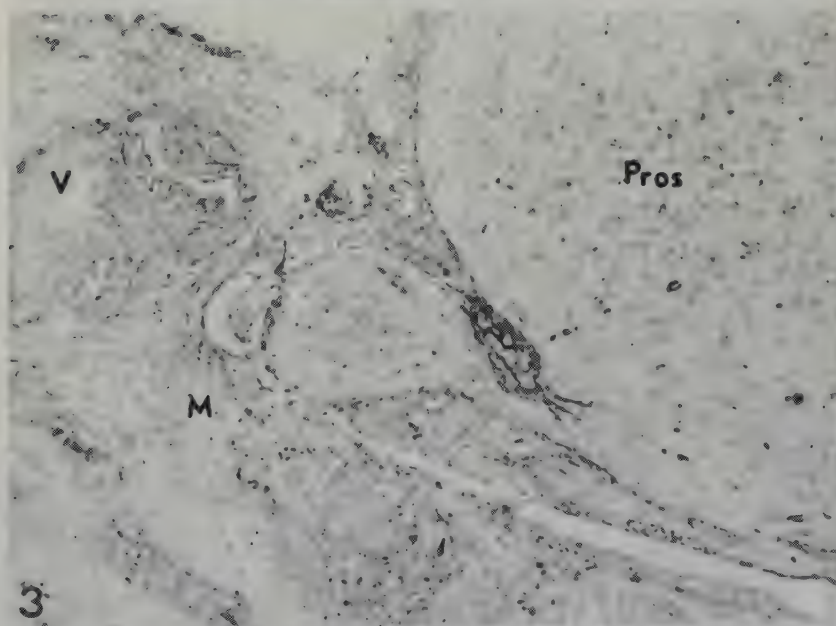
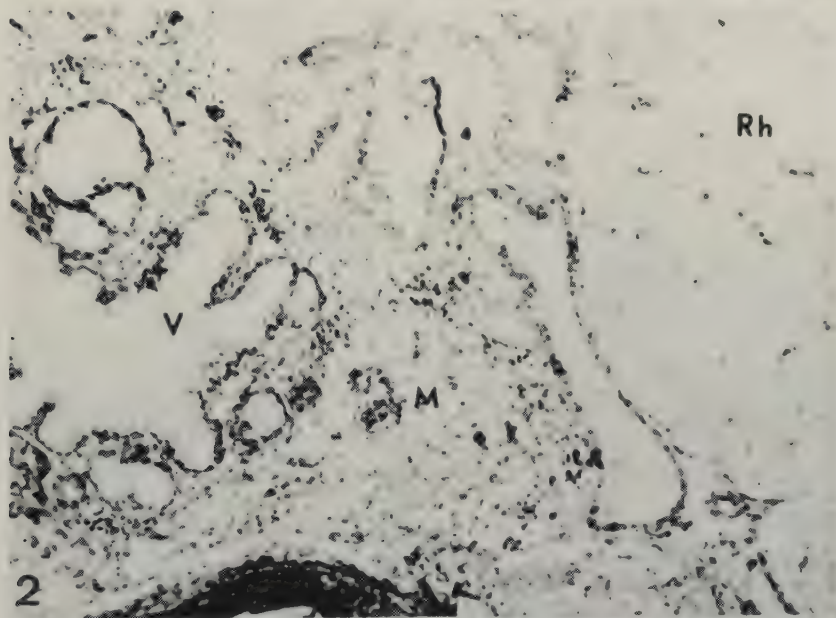
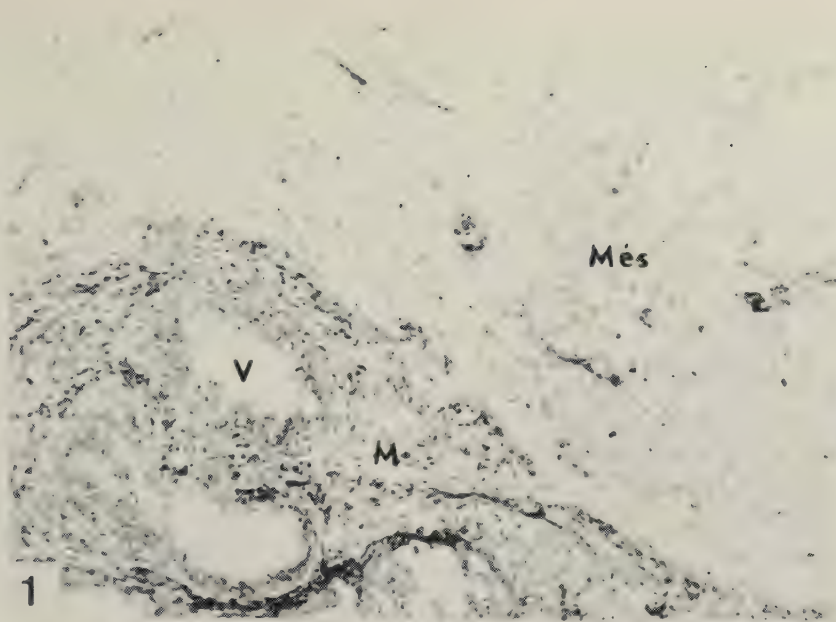
PLANCHE XV
(Embryon de poulet)

Fig. 1 - L'ébauche épithéliale de l'adénohypophyse (Poche de Rathke et poche de Seessel) a été prélevée chez un embryon de 21 somites et associée, au sein d'un mésenchyme céphalique hétérologue, à un fragment de la paroi dorsale du mésencéphale. L'ébauche a formé des vésicules peu nombreuses. Tétrachrome. G x 100.

Fig. 2 - L'ébauche épithéliale isolée au stade de 19 somites, a été associée, au sein d'un mésenchyme céphalique hétérologue, à un fragment du plancher du rhombencéphale. Seules des vésicules se sont formées. Tétrachrome. G x 100.

Fig. 3 - L'ébauche épithéliale, prélevée au stade de 24 somites a été associée in vitro en présence de mésenchyme hétérologue à un fragment de prosencéphale prélevé immédiatement en avant de la zone de contact avec l'ébauche adénohypophysaire. L'ébauche a formé quelques vésicules. Elle a moins proliféré que lorsqu'elle est prélevée à des stades plus précoces ou que lorsqu'elle évolue en l'absence de tissu nerveux. Tétrachrome. G x 100.

M : mésenchyme ; Mes : mésencéphale ; Pros : prosencéphale ;
Rh : rhombencéphale ; V : vésicules.



qui lui sont associés, seule la présence de la partie du plancher encéphalique, au contact de laquelle elle se différencie in situ, peut l'induire à donner naissance à du tissu adénohypophysaire. La prolifération de l'ébauche isolée est moins importante quand elle est prélevée à des stades voisins de 25 somites. Par ailleurs, la présence de tissus nerveux de différentes origines limite la formation de vésicules.

D. - CARACTERE AUTONOME DE LA DIFFERENCIATION ADENOHYPOPHYSIAIRE.

=====

L'ébauche adénohypophysaire a été isolée chez des embryons à différents stades compris entre 25 somites (stade 15 de H. et H.) et 5 jours d'incubation (stade 26 de H. et H.). La durée de la greffe a été, dans la plupart des cas, de 13 à 15 jours, quelques greffons ont été prélevés après 7, 10 ou 17 jours de greffe.

I. - Evolution de l'ébauche adénohypophysaire en fonction du stade de son prélèvement.

Lorsque l'ébauche est prélevée avec le plancher encéphalique et placée en greffe chorio-allantoïdienne (STEIN 1929, 1933; RUDNICK, 1932) elle évolue en tissu adénohypophysaire dans un nombre de cas d'autant plus grand que le prélèvement est effectué à un stade plus tardif. Dans le tableau III figurent les résultats obtenus en associant l'ébauche adénohypophysaire à des mésenchymes hétérologues axiaux, céphalique et somitique.

Lorsque l'ébauche est prélevée à des stades compris entre 25 et 30 somites sa différenciation est obtenue dans 7 greffons seulement sur 21; les cas positifs observés dans cette série expérimentale résultent respectivement du développement de l'épithélium hypophysaire provenant d'embryons de 25 somites (2 cas), 26 somites (1 cas), 28 somites (1 cas), 29 somites (1 cas) et 30 somites (2 cas).

Lorsque l'ébauche est prélevée sur des embryons de 31 à 35 somites, elle se différencie dans la moitié des greffons environ et dans près de 90 % des cas lorsqu'elle provient d'embryons de stades compris entre 35 somites et 5 jours d'incubation. Les résultats obtenus avec d'autres types de mésenchymes confirment cette évolution favorable de l'ébauche adénohypophysaire isolée à ces stades. En présence de tissu nerveux et pour des stades compris entre 3 et 5 jours, STEIN obtient du tissu adénohypophysaire dans 94 % des greffons, ce résultat est comparable à celui que nous avons obtenu. Il n'en est pas de même pour les stades plus

Stades du prélèvement de l'ébauche adénohypophysaire	Nombre de greffons étudiés	Présence de tissu adénohypophysaire	Absence de tissu adénohypophysaire	
			Absence de tissu épithélial	Présence de vésicules
25 à 30 somites	21	7	4	10
30 à 35 somites	15	7	2	6
3 à 5 jours d'incubation	57	51	3	3

Tableau III.

Evolution de l'ébauche de l'adénohypophyse en fonction du stade de son prélèvement.

précoces. Alors que STEIN observe du tissu adénohypophysaire dans 79 % des cas, pour des stades compris entre 16 et 30 somites, nous en obtenons seulement dans 14 greffons sur 36 et encore s'agit-il de stades compris entre 25 et 35 somites. Ce fait souligne que la présence du tissu nerveux peut encore être importante à ces stades du développement pour assurer la différenciation de l'ébauche de l'adénohypophyse; toutefois cette ébauche peut, à partir du stade de 25 somites, évoluer indépendamment du plancher encéphalique. Il convient de remarquer que lorsque la poche de Rathke est prélevée avant le stade de 25 somites et qu'elle évolue au contact de l'ébauche hypothalamique, elle forme du tissu adénohypophysaire dans 26 greffons sur 37 qui ont été étudiés; le pourcentage de cas positifs est supérieur à celui qui a été obtenu en l'absence de tissu nerveux, à partir d'ébauches prélevées à des stades compris entre 25 et 35 somites.

II. - Evolution de l'ébauche adénohypophysaire associée à des mésenchymes hétérologues.

1.) Evolution de l'ébauche adénohypophysaire associée à des mésenchymes axiaux.

L'association de la poche de Rathke à des mésenchymes axiaux donne des

résultats comparables (Tableau IV): du tissu adénohypophysaire se différencie dans 39 greffons sur 53 en présence de mésenchyme céphalique hétérologue et dans 26 greffons sur 40 en présence de mésenchyme somitique. La structure des greffons est identique : ils sont formés d'un mésenchyme qui a évolué en tissu musculaire ou en pièces cartilagineuses d'importance variable.

Dans le cas des greffons prélevés après 7 ou 10 jours de greffe, le tissu adénohypophysaire montre une structure en cordons encore lâches (Planche XVI, fig. 1 et 2), qui devient plus dense par la suite, comme cela s'observe dans le cas de l'adénohypophyse évoluant in situ. Après 10 jours de greffe des cellules "acidophiles" sont présentes, des granulations APS positives ont également été décelées dans certaines cellules. Lorsque la durée de greffe atteint ou excède 14 jours, le tissu adénohypophysaire est généralement dense, les sinusoides sanguins sont rarement développés (Planche XVI, fig. 3 et 4). Des cellules cyanophiles et érythrophiles bien différenciées sont toujours observées, des cellules orangeophiles ont également été mises en évidence dans les greffons maintenus en greffe jusqu'à la fin de l'incubation. La différenciation des types cellulaires ne dépend donc pas de façon stricte du stade du prélèvement de l'ébauche dans la mesure où il est effectué après 25 somites. La durée de l'évolution est par contre déterminante, elle n'est d'ailleurs pas rigoureusement synchrone pour tous les greffons comme le montre le fait que les cellules orangeophiles ne sont pas toujours mises en évidence dans le tissu adénohypophysaire formé à partir d'ébauches prélevées au même stade et ayant évolué en greffe pendant la même période.

En ce qui concerne la morphologie du tissu adénohypophysaire, deux cas sont à considérer en fonction du stade du prélèvement de l'ébauche. Si elle provient d'embryons à des stades compris entre 25 somites et 3 jours et demi d'incubation (St. 15 à 19 de H. et H.) le tissu formé est souvent peu développé, il ne permet pas la distinction de zones correspondant au lobe céphalique et au lobe caudal de l'adénohypophyse ; les cellules chromophiles peuvent être nombreuses, mais elles sont réparties dans tout le greffon. Par contre, si l'ébauche provient d'embryons âgés de 3 jours et demi à 5 jours (stades 20 à 26 de H. et H.), le tissu adénohypophysaire qui se différencie est bien développé, la distinction de zones correspondant aux lobes de l'adénohypophyse est possible dans de nombreux

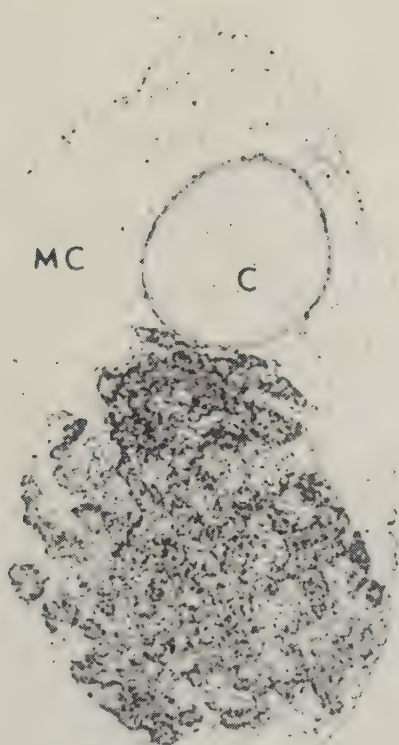
PLANCHE XVI
(Embryon de poulet)

Fig. 1 et 2 - L'ébauche épithéliale de l'adénohypophyse, prélevée chez un embryon de 5 jours a été associée à du mésenchyme céphalique hétérologue et placée en greffe coelomique pendant 7 jours. Elle a proliféré pour former des cordons qui, à ce stade sont encore lâches, les sinusoi'des sanguins sont ici particulièrement développés. Une pièce cartilagineuse s'est formée au sein du mésenchyme. Hématoxyline et éosine. Fig. 1, G x 100 ; Fig. 2, G x 240.

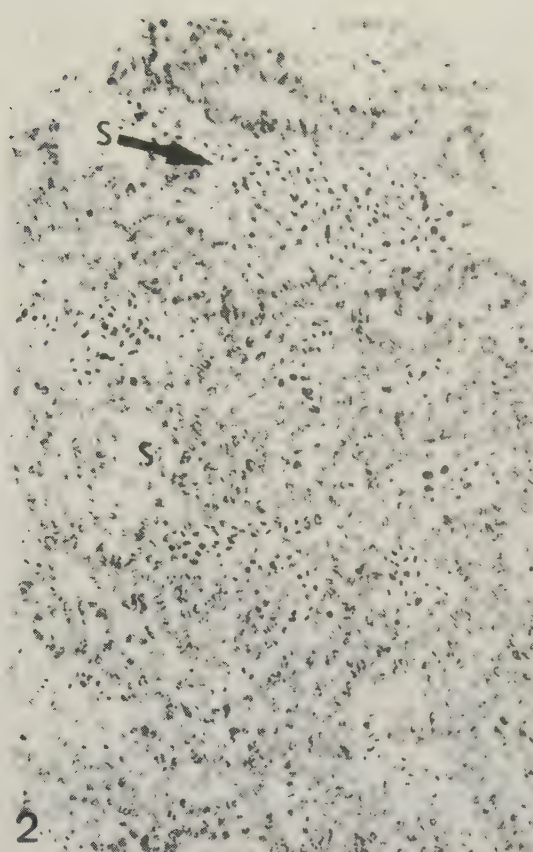
Fig. 3 - Tissu adénohypophysaire différencié à partir d'une ébauche prélevée au stade de 35 somites et associée à du mésenchyme somitique. Des vésicules de petite taille se sont formées. Tétrachrome. G x 330.

Fig. 4 - Détail de la figure 3 montrant une zone du greffon au niveau de laquelle des cellules acidophiles et cyanophiles se sont différenciées. G x 700.

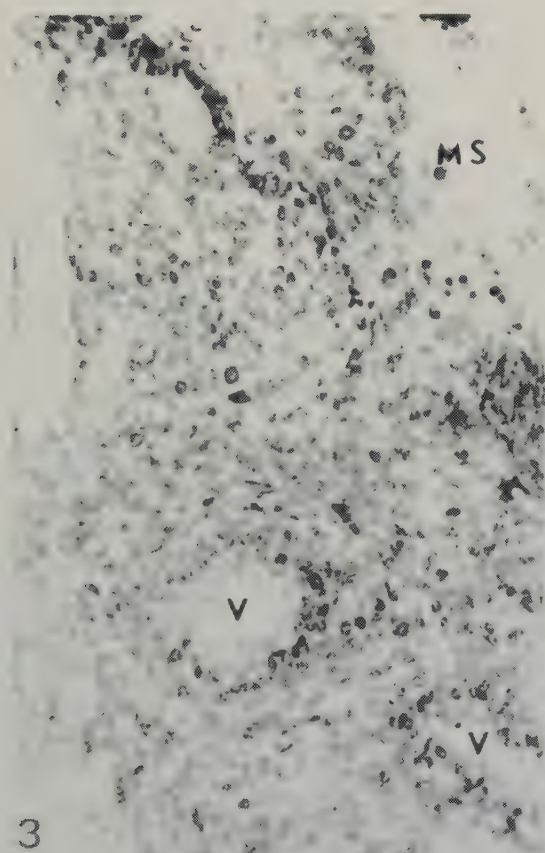
A : cellules acidophiles ; B : cellules cyanophiles ; C : cartilage ;
MC : mésenchyme céphalique ; MS : mésenchyme somitique ;
S : sinusoi'de sanguin ; V : vésicules.



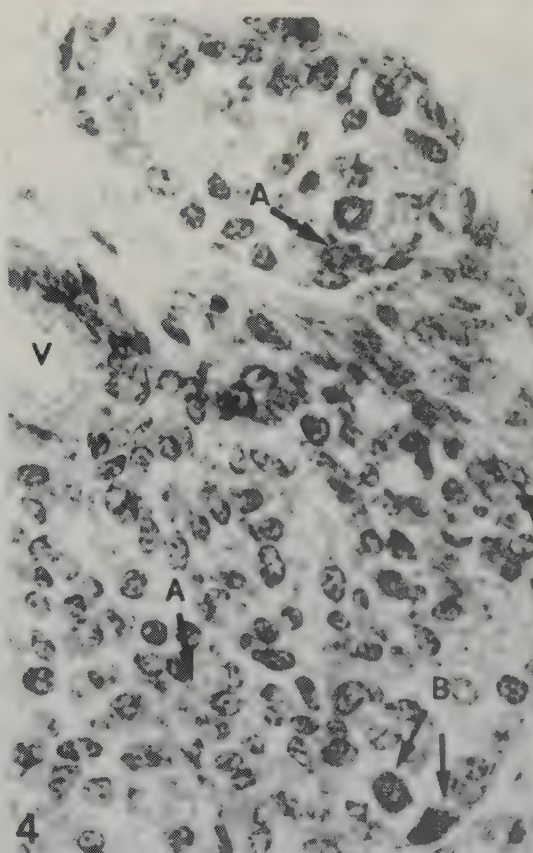
1



2



3



4

greffons. Il convient de remarquer que toute une gamme de possibilités existe entre la différenciation de l'ébauche en 2 zones distinctes (à la fois par leur structure en pseudo-acini ou en cordons et la localisation des types cellulaires) et la différenciation d'une masse de tissu dense et homogène. Le tissu adénohypophysaire est souvent accompagné par des vésicules qui restent généralement peu nombreuses et de taille réduite (Planche XVI, fig. 3) et par des pièces de cartilage qui perturbent sa structure ou dans certains cas, au contraire, peuvent isoler une "zone céphalique" chromophile d'une "zone caudale" chromophobe. La "zone caudale" est souvent le siège du développement des vésicules. Il est également possible de distinguer des kystes comparables à ceux qui se forment au niveau de la région antéro-ventrale du lobe céphalique de l'adénohypophyse (Planche XII, fig. 4).

Dans la plupart des greffons on peut distinguer des flots ou des zones correspondant à chacun des lobes de l'adénohypophyse, les cas où il existe une bilobation conforme à celle de l'adénohypophyse sont peu nombreux. Les cellules cyanophiles sont parfois rares, notamment quand le tissu est dense; elles peuvent alors être localisées presque exclusivement à la périphérie, dans une zone limitée. Cela est particulièrement le cas pour les cellules qui se colorent par le bleu alcian quand leur coloration est associée à l'APS, cette localisation rappelle celle de ces mêmes cellules dans la région ventrale du lobe céphalique.

Les vésicules qui se forment, soit seules, soit en présence de tissu adénohypophysaire, sont de deux types. Les unes, les plus nombreuses, ont une paroi mince et correspondent à celles que nous avons décrites et qui apparaissent quand l'ébauche est prélevée avant le stade de 25 somites; les autres, plus rares, ont une paroi plus épaisse et contiennent fréquemment des sécrétions muqueuses qui réagissent fortement à l'APS et se colorent en bleu par le tétrachrome.

2.) Evolution de l'ébauche adénohypophysaire associée à du mésenchyme de membre.

16 greffons ont pu être étudiés; 11 comportaient du mésenchyme de

Nature du mésenchyme associé à l'ébauche	Nombre de greffons étudiés	Présence de tissu adénohypophysaire	Absence de tissu adénohypophysaire	
			Absence de formation épithéliale	Formation de vésicules
céphalique	53	39	4	10
somitique	40	26	5	9
de membre	16	11	3	2
de gésier	13	10	2	1
de ventricule succenturié	9	5	2	2
de poumon	10	7	1	2
de somatopleure	16	6	6	4
chorio-allantoïdien (P. R. de poulet)	44	41	3 (nécr.)	
chorio-allantoïdien (P. R. de caille)	29	24	5 (nécr.)	

Tableau IV

Evolution de l'ébauche adénohypophysaire associée
à des mésenchymes hétérologues.

membre postérieur et 5 du mésenchyme de membre antérieur. Les bourgeons de membres postérieurs ont été utilisés soit entiers (6 greffons), soit après séparation de l'ectoderme (5 cas) ; les bourgeons de membre antérieur n'ont pas subi l'action de la trypsine.

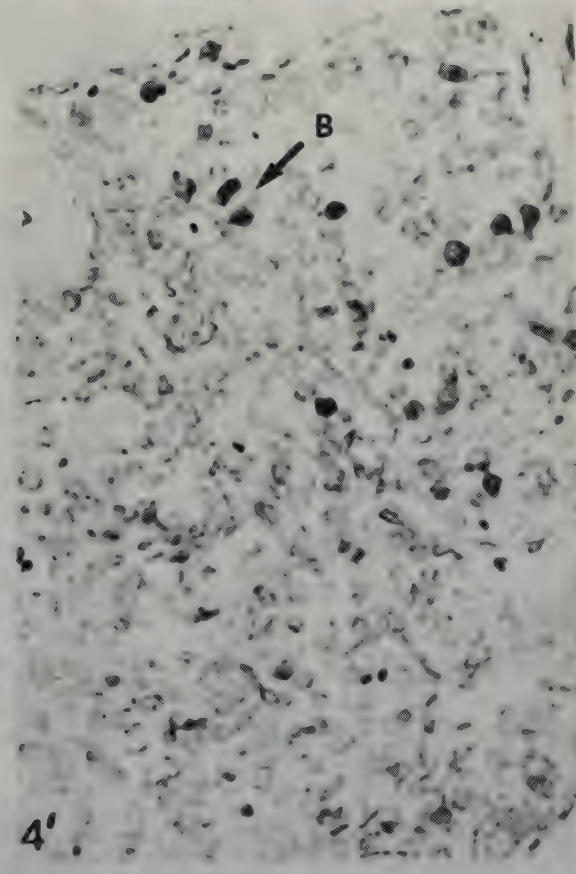
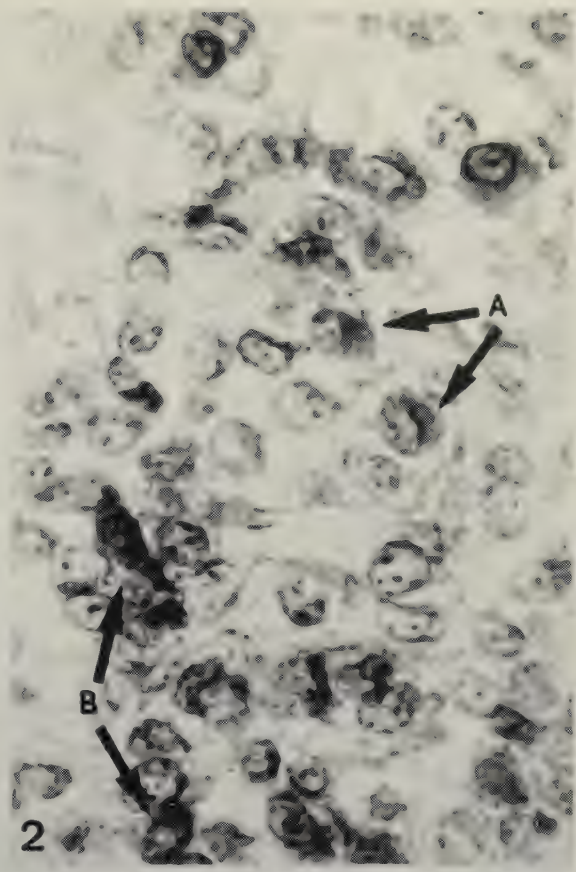
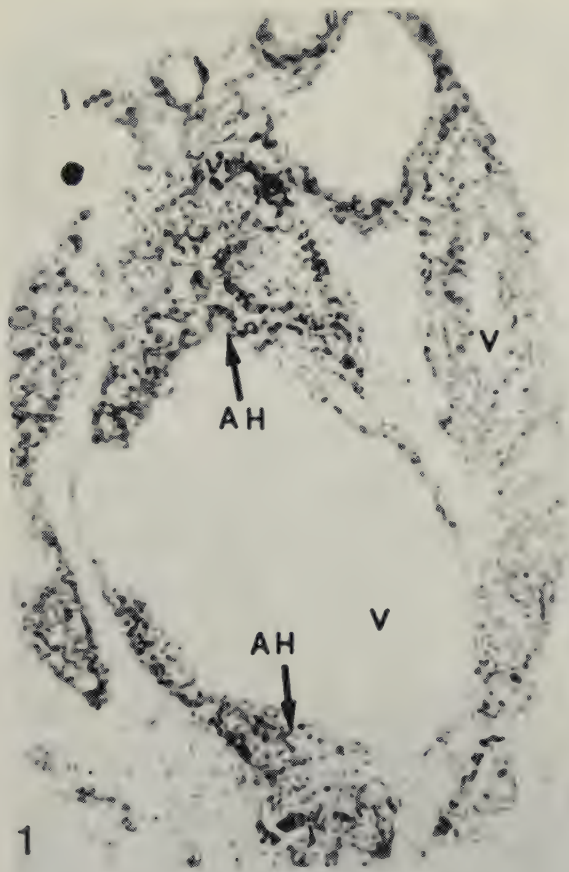
PLANCHE XVII
(Embryon de poulet)

- Fig. 1 et 2 - La poche de Rathke, prélevée chez un embryon âgé de 4 jours a été associée à un bourgeon de membre postérieur. La formation de vésicules importantes, à paroi mince a provoqué un morcellement du parenchyme adénohypophysaire. Des cellules acidophiles et cyanophiles se sont différenciées. Tétrachrome. Fig. 1, G x 120 ; fig. 2, G x 1200.
- Fig. 3 et 4 - Tissu adénohypophysaire différencié à partir d'une ébauche épithéliale prélevée au stade de 3 jours d'incubation et associée à du mésenchyme de membre. Des vésicules à paroi mince se sont également formées. La figure 4 montre le détail d'une zone (flèche) au niveau de laquelle des cellules APS positives se sont différenciées. APS et hématoxyline. Fig. 3, G x 120 ; fig. 4, G x 500.

AH : tissu adénohypophysaire ;

A : cellules acidophiles ; B : cellules cyanophiles ou APS positives ;

MM : mésenchyme de membre ; V : vésicules.



Les bourgeons de membre se sont développés en greffe coelomique de façon très importante, particulièrement quand l'ectoderme a été conservé. Du tissu adénohypophysaire a été retrouvé dans 11 greffons sur 16, dans 3 greffons, seules des vésicules ont été observées et dans 2 greffons aucune formation épithéliale n'a été retrouvée (Tableau IV). Le tissu formé ne diffère pas de celui que nous avons décrit et qui se différencie au contact des mésenchymes céphalique et somitique; très dense, (Planche XVII, fig. 1 à 4) il est accompagné de vésicules qui, par contre, sont nombreuses et de plus grande taille que celles qui se forment dans les mésenchymes purement axiaux (Planche XVI, fig. 3). Les cellules chromophiles sont nombreuses, des zones correspondant au lobe céphalique et au lobe caudal peuvent être reconnues, mais le plus souvent, le tissu est fortement perturbé par le développement de vésicules et de pièces cartilagineuses.

3.) Evolution de l'ébauche adénohypophysaire associée à des mésenchymes ventraux.

Certaines ébauches épithéliales ventrales, comme le bourgeon hépatique (N. LE DOUARIN 1964 et suiv.), la bronche (DAMERON 1968) peuvent évoluer au contact de mésenchymes ventraux. Par contre, elles ne se différencient pas quand on les place au contact de mésenchymes axiaux et de mésenchyme de membre, elles peuvent survivre et constituer des vésicules. La poche de Rathke se différenciant en présence de mésenchymes dorsaux, de même parenté embryologique, on pouvait se demander si des mésenchymes ventraux, provenant d'organes éloignés du territoire hypophysaire, se montreraient ou non favorables à l'évolution de l'ébauche adénohypophysaire (Tableau IV).

a. - Association avec un fragment de somatopleure.

Un fragment de la somatopleure a été prélevé chez des embryons âgés de 3 jours et associé in vitro à l'ébauche adénohypophysaire pendant 20 à 24

PLANCHE XVIII
(Embryon de poulet)

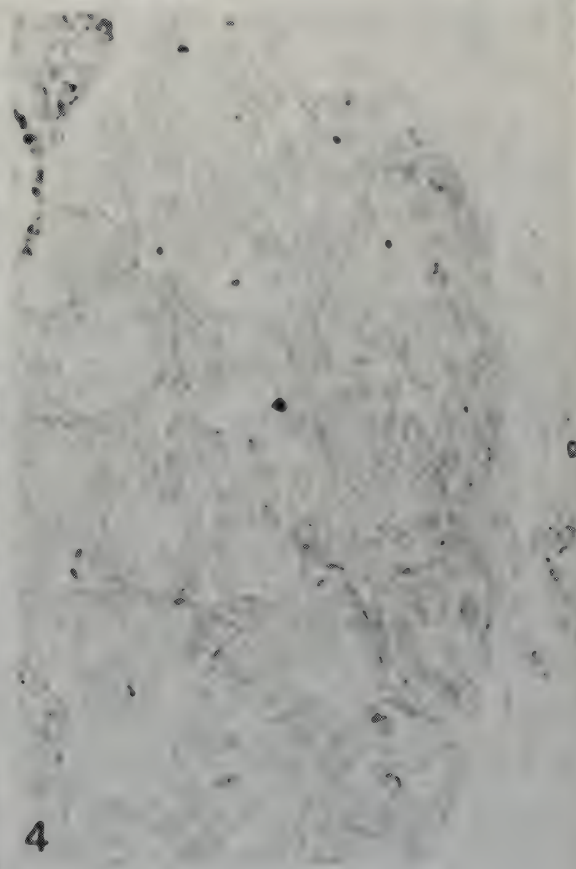
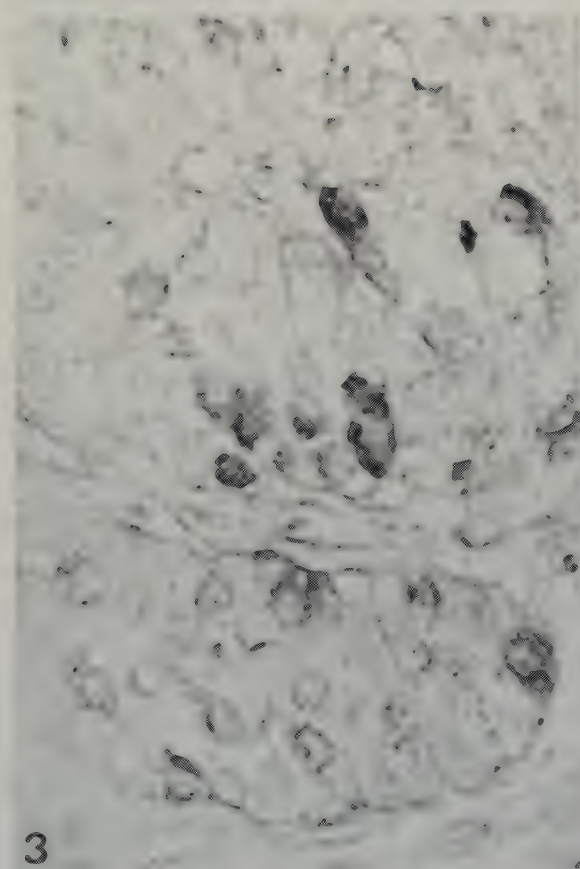
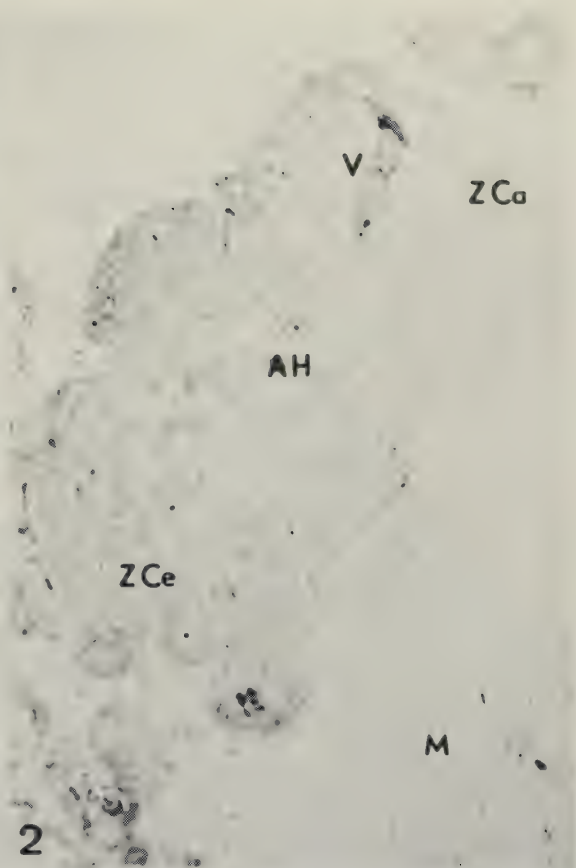
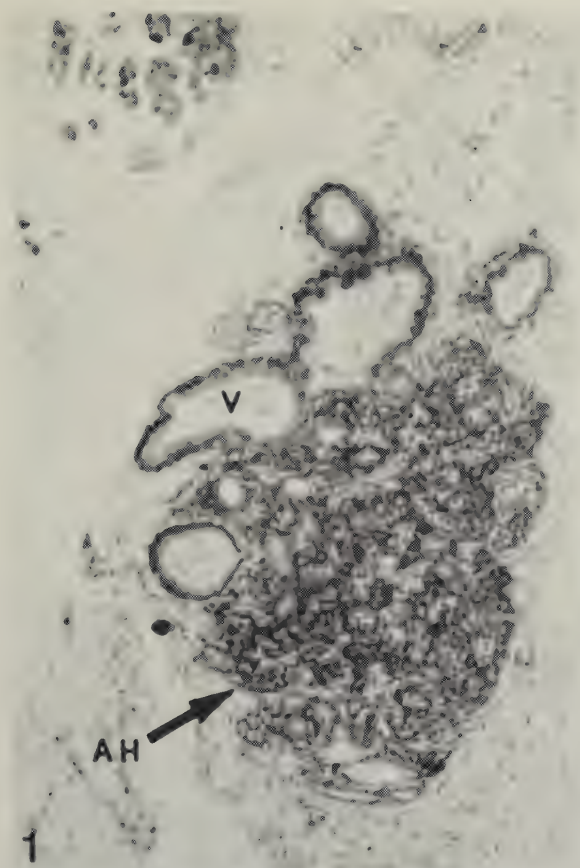
Fig. 1 - Tissu formé à partir d'une poche de Rathke isolée au stade de 3 jours 1/2 et associée à du mésenchyme de la somatopleure. La greffe coelomique a duré 14 jours. Le tissu formé est moins dense que celui qui se différencie en présence de mésenchyme axial, il est accompagné de nombreuses vésicules. Il n'est pas possible dans ce cas de distinguer une "zone céphalique" et une "zone caudale". Tétrachrome. G x 100.

Fig. 2 - Tissu formé à partir d'une ébauche adénohypophysaire prélevée au stade de 4 jours d'incubation. La greffe a duré 14 jours. Les deux segments de la poche de Rathke ont proliféré et on peut reconnaître une "zone céphalique" et une "zone caudale". La "partie céphalique" montre de nombreuses cellules APS et bleu alcian positives alors que la "partie caudale" en est dépourvue. APS et bleu alcian. G x 120.

Fig. 3 - Détail de la figure 2 montrant la "zone céphalique". Les cellules APS ou bleu alcian positives sont bien différenciées. G x 1200.

Fig. 4 - Détail de la figure 2 montrant la "zone caudale". On reconnaît la structure pseudo-acineuse du lobe caudal de l'adénohypophyse. Cette zone est dépourvue de cellules APS positives et montre une vésicule. G x 400.

AH : tissu adénohypophysaire ; M : mésenchyme de la somatopleure ;
V : vésicules ; Z Ca : "zone caudale" ; Z Ce : "zone céphalique".



heures. L'ébauche adénohypophysaire peut proliférer au contact de ce mésenchyme . 16 greffons ont pu être étudiés : 6 ont montré du tissu adénohypophysaire accompagné par des vésicules, 4 présentaient seulement des vésicules et dans les 6 autres aucune formation épithéliale dérivée de la poche de Rathke n'a été retrouvée. Les vésicules, qu'elles se forment seules ou au voisinage de tissu adénohypophysaire, sont nombreuses, de taille moyenne le plus souvent (Planche XVIII, fig. 1 et 2) .

Le tissu adénohypophysaire, qui est moins dense que dans le cas où il s'est différencié au contact de mésenchymes axiaux, montre des cellules acidophiles et cyanophiles. Ces dernières sont particulièrement nombreuses et bien colorables, notamment après traitement par la réaction bleu alcian - APS (Planche XVIII, fig 2 et 3) qui permet de distinguer de grosses cellules bleues situées à la périphérie du greffon dans des zones qui semblent correspondre au lobe céphalique. Les figures 3 et 4 de la planche XVIII représentent un greffon où la subdivision en 2 lobes est reconnaissable.

b. - Association avec le mésenchyme de gésier ou de ventricule succenturié.

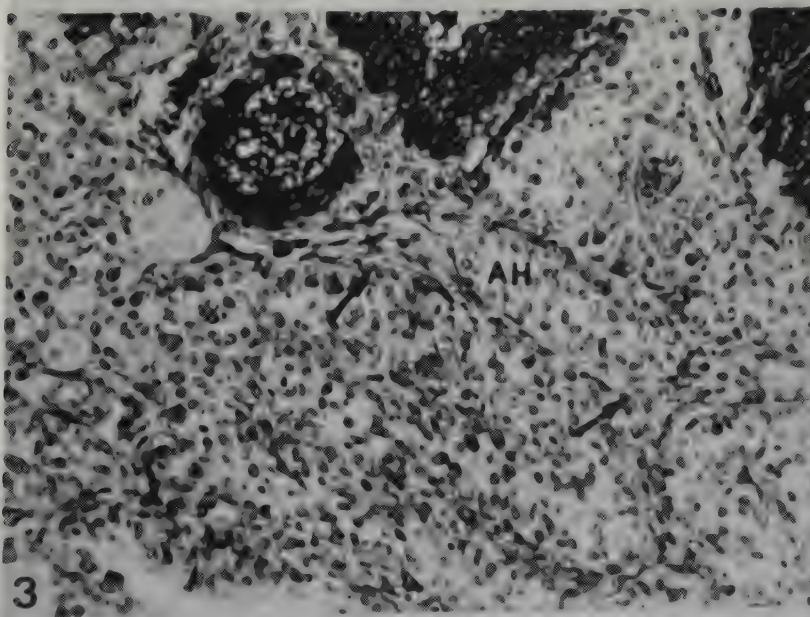
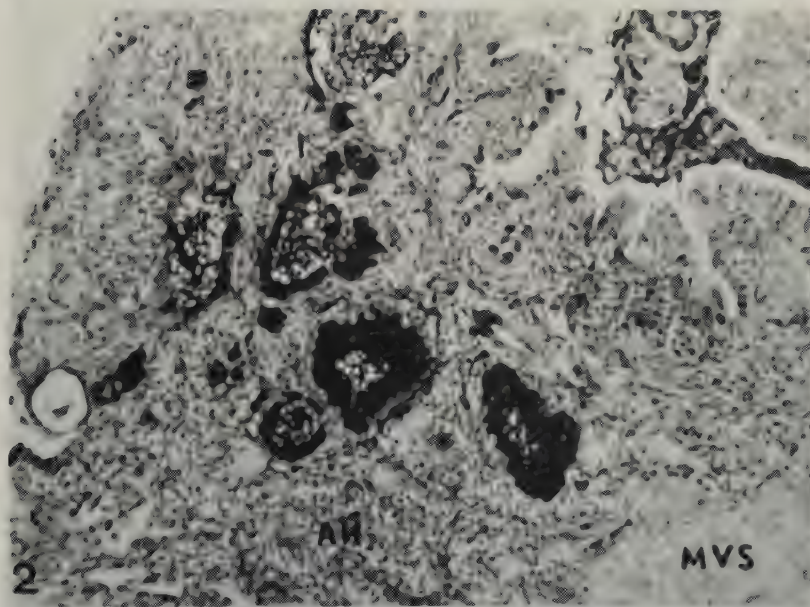
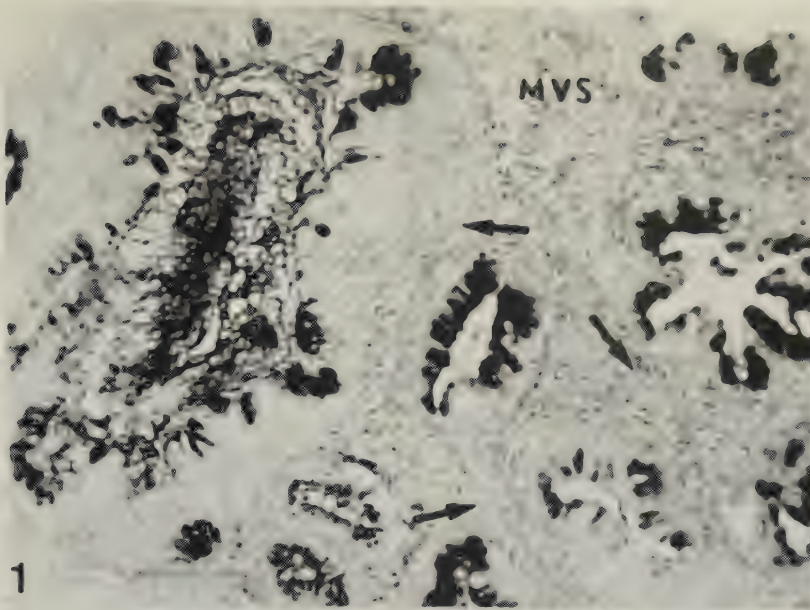
Le mésenchyme est obtenu à partir des ébauches de gésier et de ventricule succenturié prélevées sur des embryons de 6 jours. L'épithélium endodermique est séparé du mésenchyme par action de la trypsine selon le procédé habituel.

Le mésenchyme de gésier permet le développement de tissu adénohypophysaire dans 10 greffons sur 13 et le mésenchyme de ventricule succenturié dans 5 greffons sur 9 (Tableau IV). Ces mésenchymes, qui sont extrêmement denses, permettent d'observer une évolution comparable de la poche de Rathke. Cette évolution n'est pas la même selon que l'ébauche prolifère au sein du mésenchyme ou qu'elle prolifère à sa périphérie ; dans les deux cas, toutefois, des vésicules très développées apparaissent (Planches XIX, XX, fig. 1 et XXI, fig. 1).

PLANCHE XIX
(Embryon de poulet)

- Fig. 1 - L'ébauche adénohypophysaire, prélevée chez un embryon de 3 jours et demi, a été associée in vitro à du mésenchyme de ventricule succenturié provenant d'un embryon de 6 jours. Seules des vésicules se sont formées, elles montrent une paroi épaisse de type digestif. Le mésenchyme de gésier s'est organisé en couches concentriques (flèches) autour des vésicules, qui sécrètent du matériel fortement APS positif. APS et hématoxyline. G x 120.
- Fig. 2 - Tissu formé par un explant du même type que celui représenté par la figure 1. Du tissu adénohypophysaire s'est formé, il est accompagné par des vésicules de type digestif. Le tissu adénohypophysaire constitue des îlots plus ou moins séparés les uns des autres par des vésicules et par des travées de mésenchyme. APS et hématoxyline. G x 120.
- Fig. 3 - Détail de la figure 2. Le tissu adénohypophysaire forme des îlots séparés par des travées musculaires (flèches). La zone représentée est constituée par du tissu peu différencié dépourvu de cellules APS positives. G x 300.

AH : tissu adénohypophysaire ; MVS : mésenchyme de ventricule succenturié.

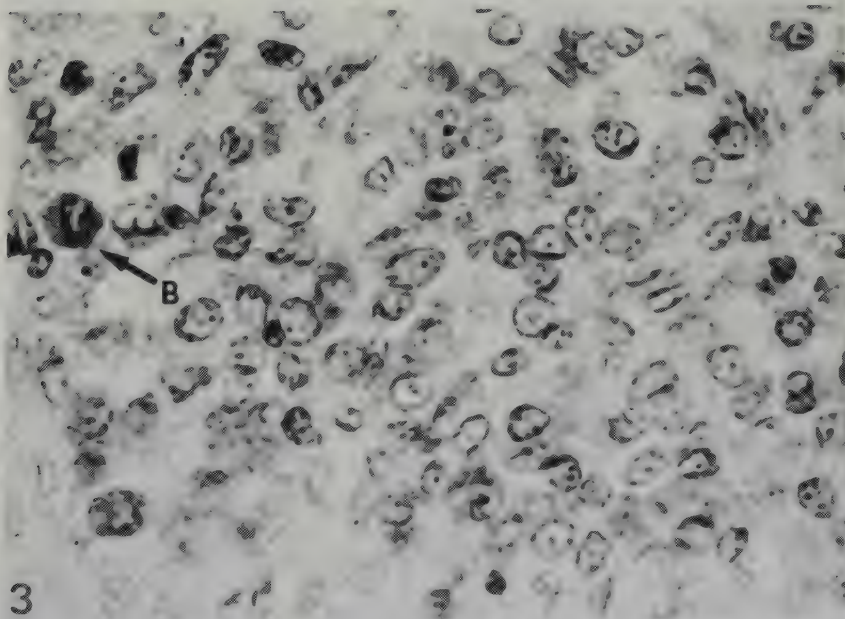
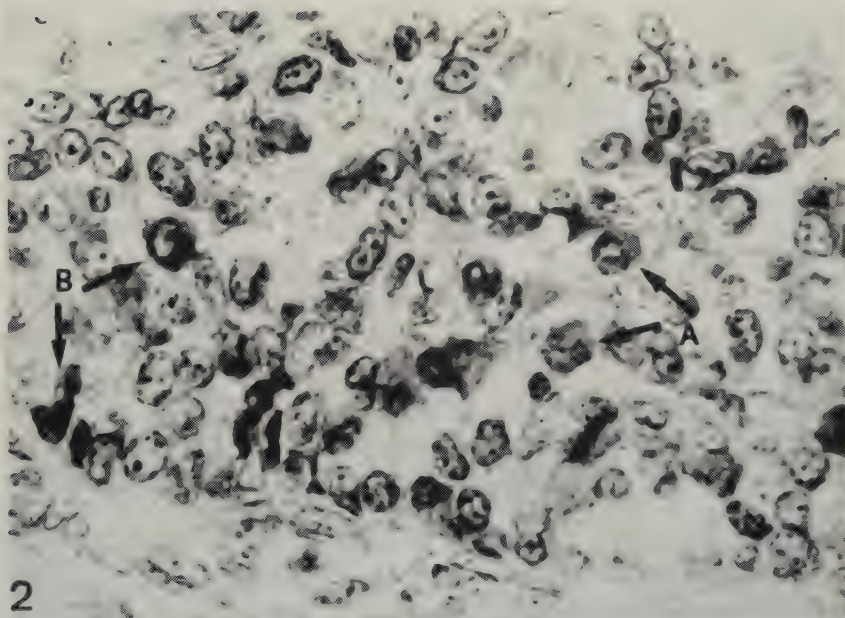
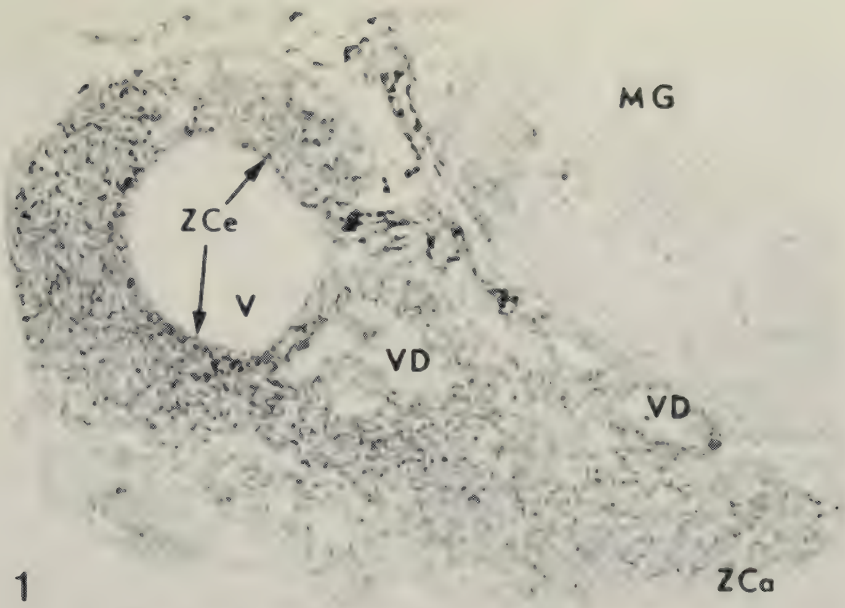


Dans le premier cas, lorsque l'ébauche prolifère au sein du mésenchyme (Planche XIX, fig. 2 et 3), elle se présente sous forme d'flots souvent séparés par de véritables faisceaux musculaires. Le tissu glandulaire est alors incomplètement différencié; les cellules chromophobes sont nombreuses, les cellules acidophiles et basophiles relativement rares par rapport à l'adénohypophyse ayant évolué in situ; les cellules cyanophiles montrent une réaction faible à l'APS. Il n'est pas possible de reconnaître des zones correspondant au lobe céphalique et au lobe caudal si ce n'est par la présence, dans certains flots, de gouttelettes de colloïde qui se forment essentiellement dans la "zone caudale" comme le montre le deuxième type de greffons obtenus (Planche XXI, fig. 1).

Dans le 2ème cas, la poche de Rathke s'est trouvée repoussée dans la partie périphérique du greffon, elle prolifère et donne naissance à du tissu adénohypophysaire dense mais bien différencié (Planche XX, fig. 2 et 3, Planche XXI, fig. 2). Des travées musculaires pénètrent dans ce tissu, mais on n'observe plus de morcellement comparable à celui que nous avons précédemment décrit. Les cellules acidophiles et cyanophiles sont nombreuses, leur localisation permet de reconnaître une partie céphalique d'une partie caudale chromophobe. Il faut signaler que ce type d'association a confirmé une tendance que nous avions remarquée quand l'ébauche est associée à des mésenchymes axiaux et qui consiste en la formation de vésicules dans la partie correspondant au lobe caudal qui est souvent réduite. Par contre, la structure pseudo-acineuse de cette zone caudale est ici soulignée par la présence de gouttelettes de colloïde souvent très nombreuses, ces gouttelettes sont cyanophiles et fortement colorables par l'APS (Planche XXI, fig. 1). TIXIER-VIDAL (1954) a décrit ces gouttelettes de colloïde dans l'adénohypophyse d'embryons de 11 jours; réparties dans l'ensemble de la glande, elles se localisent, dans la suite du développement, au niveau du lobe caudal. Nous avons également observé ces gouttelettes dans l'adénohypophyse, mais au cours de la 3e semaine de l'incubation, elles se situent dans le lobe caudal et sont très peu nombreuses. Nous les avons rarement rencontrées quand la poche de Rathke évolue au contact de mésenchymes axiaux. Leur formation en grand nombre est donc liée à l'influence exercée par le mésenchyme de ventricule

PLANCHE XX
(Embryon de poulet)

- Fig. 1 - L'ébauche adénohypophysaire prélevée chez un embryon âgé de 4 jours a été associée à du mésenchyme de gésier provenant d'un embryon de 6 jours. L'ébauche s'est développée à la périphérie du mésenchyme, elle est de ce fait restée massive, elle montre une importante vésicule à paroi mince et quelques vésicules plus petites à paroi épaisse. Les cellules chromophiles sont surtout situées à la périphérie de la grosse vésicule (ZCe). A l'opposé de cette zone, les cellules chromophiles sont rares ou absentes (ZCa), elles correspondent à celles du lobe caudal de l'adénohypophyse. Tétrachrome. G x 100.
- Fig. 2 - Détail de la région au niveau de laquelle les cellules acidophiles et cyanophiles se sont bien différenciées et qui correspond au lobe céphalique. G x 1000.
- Fig. 3 - Détail de la zone chromophobe peu importante qui correspond au lobe caudal. Une seule cellule cyanophile est apparente. G x 1000.
- A : cellules acidophiles ; B : cellules cyanophiles ; MG : mésenchyme de gésier ; ZCa : "zone caudale" ; ZCe : "zone céphalique" ; V : vésicule à paroi mince ; VD : vésicule à paroi épaisse.



succenturié ou de gésier. La nature du mésenchyme joue également un rôle dans le développement des vésicules qui sont souvent nombreuses et dont la paroi s'est considérablement épaissie et entourée d'une tunique musculaire qui leur confère un aspect de structure digestive. La paroi de certaines vésicules est constituée de cellules hautes souvent ciliées, il s'agit de cellules muqueuses dont la sécrétion parfois abondante occupe la lumière des vésicules. Le mésoderme, en constituant une tunique qui épouse les contours des vésicules, a donc manifesté une réaction au contact de l'ébauche adénohypophysaire ou au contact des tissus épithéliaux susceptibles d'accompagner l'ébauche.

c. - Association avec le mésenchyme pulmonaire.

Les ébauches pulmonaires sont prélevées sur des embryons âgés de 5 jours à 5 jours 1/2; après action de la trypsine, l'endoderme bronchique encore peu ramifié à ce stade peut être facilement éliminé.

10 greffons ont été étudiés; 7 montrent du tissu adénohypophysaire qui est moins abondant que dans le cas des associations avec les autres mésenchymes; les catégories cellulaires sont bien différenciées. Des vésicules ont été seules retrouvées dans 2 greffons, elles se forment également quand du tissu adénohypophysaire existe dans les greffons (Planche XXI, fig. 3 et 4). Comme cela est le cas au contact du mésenchyme de gésier et de ventricule succenturié, des gouttelettes de colloïde apparaissent en nombre important (Planche XXI, fig. 4).

4.) Evolution de l'ébauche adénohypophysaire associée au mésenchyme

chorio-allantoïdien.

Les ébauches ont été prélevées chez des embryons de poulets âgés de 3 à 5 jours d'incubation (stades 19 à 26 de H. et H.) et chez des embryons de cailles à des stades correspondants. Après avoir été isolées, les ébauches ont été soigneusement lavées par du sérum dilué dans du liquide de Tyrode et greffées dans la chorio-allantoïde d'embryons de poulets âgés de 5 à 7 jours.

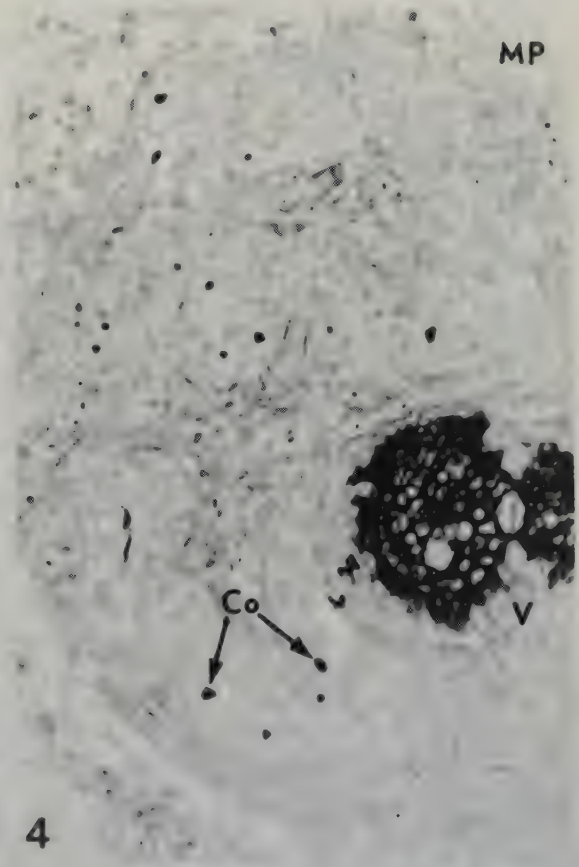
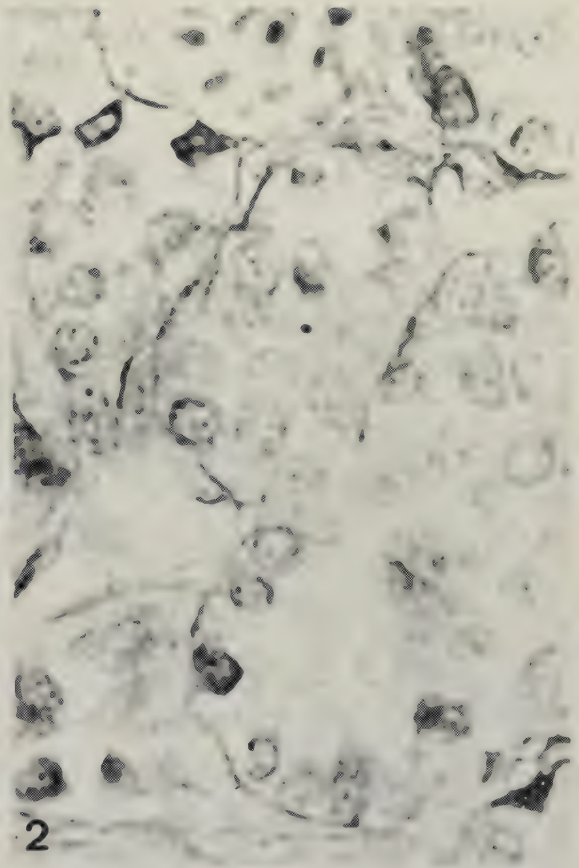
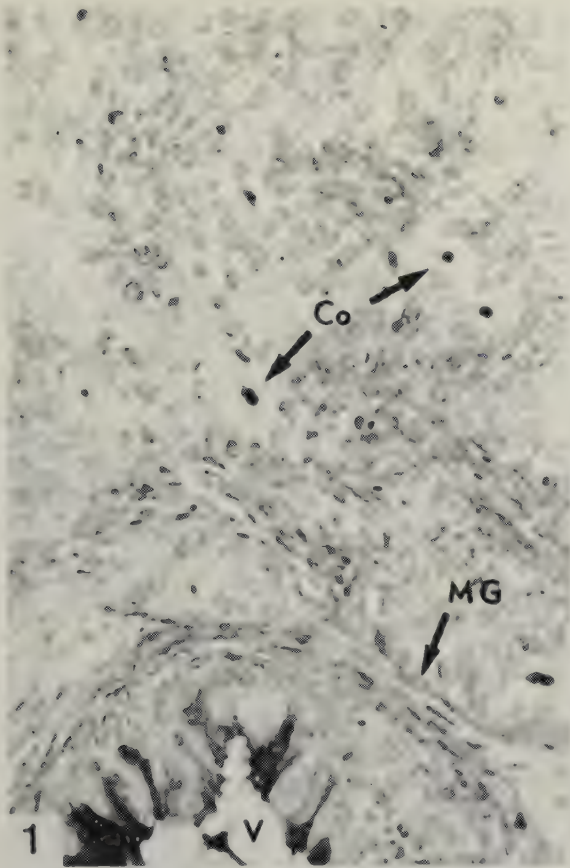
PLANCHE XXI
(Embryon de poulet)

Fig. 1 - Tissu adénohypophysaire formé à partir d'une ébauche prélevée au stade de 3 jours 1/2 d'incubation et associée à du mésenchyme de gésier. Des gouttelettes de colloïde apparaissent dans le parenchyme adénohypophysaire qui est très dense dans la partie centrale du greffon. Cette zone est dépourvue de cellules APS positives. Une vésicule à paroi épaisse entourée de fibres musculaires de gésier est apparente. APS et hématoxyline. G x 400.

Fig. 2 - Détail de la zone périphérique du même greffon que celui représenté par la figure 1. Des cellules APS positives sont présentes. APS et hématoxyline. G x 1200.

Fig. 3 et 4 - Tissu formé à partir d'une ébauche épithéliale prélevée au stade de 4 jours d'incubation et associée à du mésenchyme de poumon. Quelques vésicules, accompagnées de nombreuses gouttelettes de colloïde (Fig. 4) sont visibles au sein de ce tissu. Des cellules APS positives se sont différenciées dans le cas du greffon représenté par la figure 3. Par contre la figure 4 montre une zone, d'un autre greffon, totalement dépourvue de cellules APS positives. APS et hématoxyline. Fig. 3 : G x 300 ; Fig. 4 : G x 400.

Co : colloïde ; MG : mésenchyme de gésier ; MP : mésenchyme de poumon ;
V : vésicule.



La durée de la greffe était de 12 à 14 jours, les greffons étant recherchés, selon les séries expérimentales, entre le 18e et le 20e jour de l'incubation. 44 greffons ont été examinés dans le cas de la greffe de poches de Rathke de poulets. 41 ont montré du tissu adénohypophysaire, 3 présentaient des cellules nécrotiques accompagnées par des cellules fibreuses. Dans le cas de la greffe de poches de Rathke de caille, 29 greffons ont été étudiés, 24 ont permis d'observer la formation de tissu adénohypophysaire, 5 greffons montraient des cellules en voie de nécrose et des cellules fibreuses (Tableau IV).

Le tissu adénohypophysaire formé à partir de la poche de Rathke de Caille et de la poche de Rathke de Poulet se présente de la même façon. Dans les 2 cas la poche de Rathke prolifère abondamment et le tissu formé atteint un volume qui représente souvent l'équivalent de plus des deux tiers de l'adénohypophyse dans le cas de l'embryon de poulet et un volume comparable à celui de l'adénohypophyse dans le cas de l'embryon de caille. Ce tissu est caractérisé par son abondante vascularisation, de nombreux sinusoides sanguins séparent des cordons cellulaires où se retrouvent des cellules acidophiles et basophiles. La structure particulièrement lâche de ce tissu contraste à la fois avec celle de l'adénohypophyse différenciée in situ et avec celle du tissu adénohypophysaire qui a évolué au contact de mésenchymes hétérologues, le mésenchyme de membre ou de gésier et de ventricule succenturié. Le tissu apparaît très homogène à la fois par sa structure et par la répartition des catégories cellulaires (Planche XXII, fig.1 à 4). Les cellules cyanophiles et acidophiles sont disséminées dans la totalité du greffon, les cellules cyanophiles sont particulièrement bien différenciées surtout dans le cas du tissu de caille. Cette observation, ainsi d'ailleurs que le développement important constaté dans le cas du tissu adénohypophysaire de caille sont à mettre en rapport avec le fait que la durée de l'incubation est sensiblement plus courte chez la Caille que chez le Poulet (16 jours au lieu de 21), or le tissu que nous obtenons en greffe chorio-allantoïdienne atteint, dans certains cas, un âge de 20 jours. Le traitement par l'APS, suivi d'une coloration par l'orange G, permet de mettre en évidence des cellules APS positives toujours

PLANCHE XXII

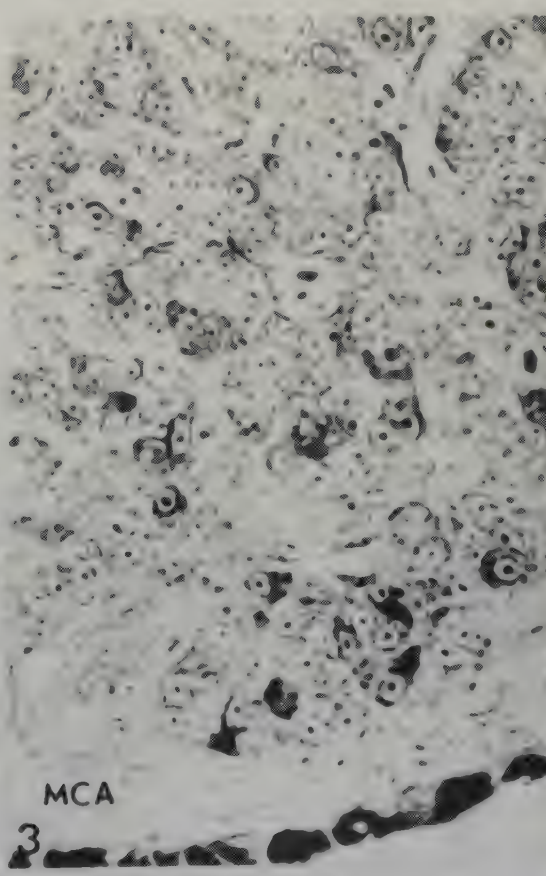
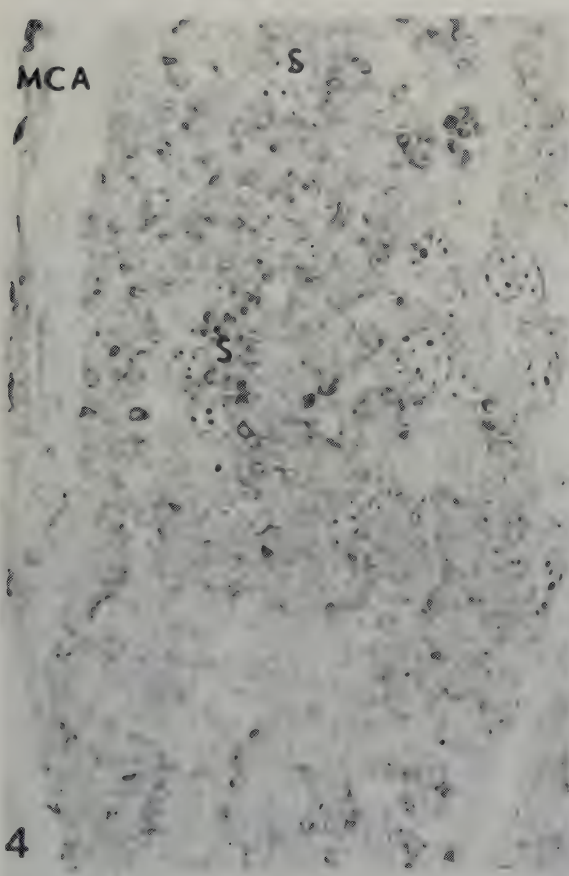
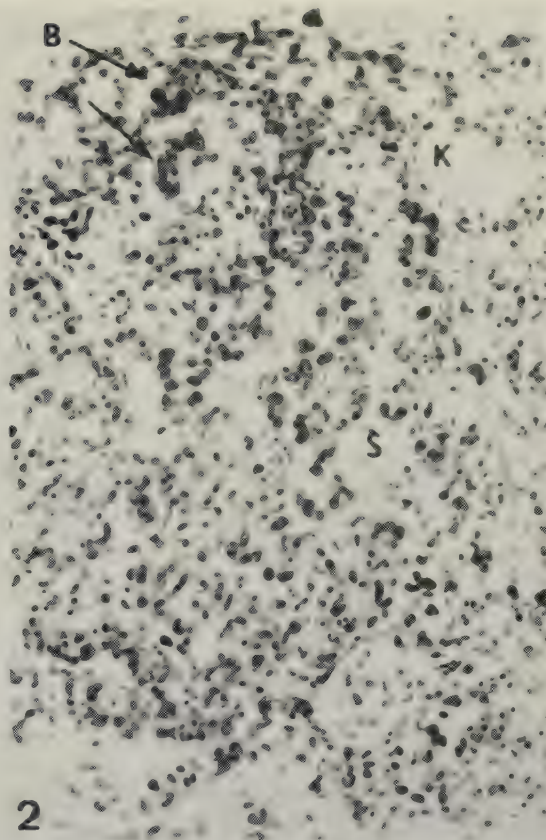
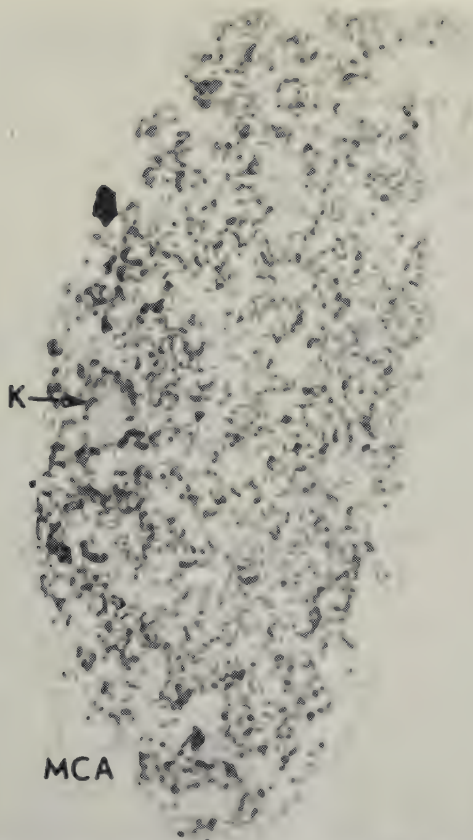
Fig. 1 et 2 - Tissu adénohypophysaire différencié en greffe chorio-allantoïdienne à partir d'une poche de Rathke de caille prélevée au stade de 4 jours d'incubation. Les cellules cyanophiles sont réparties dans la totalité du greffon. Elles sont toutefois plus nombreuses et plus chromophiles dans le voisinage d'un petit kyste (Fig. 2) qui rappelle ceux que l'on rencontre dans la partie ventrale du lobe céphalique. Le tissu formé est lâche et il n'est pas possible de distinguer de "zone céphalique" ni de "zone caudale". On remarque le volumineux nucléole caractéristique du noyau de caille. Tétrachrome. Fig. 1, G x 120.; Fig. 2, G x 400.

Fig. 3 - Tissu formé par une poche de Rathke prélevée au stade de 3 jours 1/2 d'incubation et ayant évolué pendant 14 jours en greffe chorio-allantoïdienne chez un embryon de poulet. Les cellules APS positives sont nombreuses et bien différenciées. APS et hématoxyline. G x 500.

Fig. 4 - Tissu adénohypophysaire formé en greffe chorio-allantoïdienne à partir d'une poche de Rathke de poulet prélevée au stade de 4 jours d'incubation. Les cellules APS positives sont réparties dans la totalité du greffon. Le tissu est lâche sa structure homogène ne permet pas de distinguer de zone correspondant au lobe céphalique ou au lobe caudal de l'adénohypophyse. APS et hématoxyline. G x 300.

B : cellules cyanophiles de grande taille et fortement chromophiles ;

K : kyste ; MCA : mésenchyme chorio-allantoïdien ; S : sinusoiide sanguin.



très bien différenciées, mais également des cellules fortement orangeophiles, ce qui est rarement le cas dans le tissu adénohypophysaire d'embryon de poulet différencié dans les mêmes conditions. L'APS associé au bleu alcian permet de confirmer cette différenciation des types cellulaires; on peut distinguer des cellules bleues souvent périphériques, des cellules rouges qui ont réagi à l'APS et des cellules qui apparaissent en violet et semblent avoir réagi à l'APS et au bleu alcian, comme nous l'avons observé dans le cas de l'adénohypophyse différenciée in situ.

Nous avons parfois remarqué, dans quelques greffons, une répartition particulière des cellules cyanophiles : plus rares dans une partie du greffon elles étaient nombreuses et plus chromophiles dans l'autre partie (Planche XXII, fig. 1 et 2) Il est toutefois difficile d'affirmer qu'il s'agit là de régions correspondant soit au lobe caudal dans le premier cas, soit au lobe céphalique dans le second. Les cellules cyanophiles sont, en effet, toujours plus nombreuses qu'elles ne le sont au niveau du lobe caudal de l'adénohypophyse, leur taille est également nettement plus importante. Quant à la structure pseudo-acineuse du lobe caudal, elle n'est jamais retrouvée. La coloration par le tétrachrome nous a permis de constater que les cellules acidophiles de certains greffons avaient tendance à se colorer par l'érythrosine et également par l'orange G. Les coupes histologiques intéressant les greffons ayant été, dans la plupart des cas, colorées avec des coupes d'adénohypophyse une modification des affinités tinctoriales due à la qualité du colorant paraît exclue. Rappelons que la fixation, dans le cas des greffons ayant évolué en greffe chorio-allantoïdienne a toujours été très rapide, le greffon étant encore irrigué quelques secondes avant d'être plongé dans le fixateur. La structure particulièrement lâche des explants permettant, par ailleurs, au fixateur d'atteindre la totalité du greffon dans un délai très court. Toutefois, bien qu'une différence dans les conditions de fixation ne puisse être totalement exclue, il nous paraît plus vraisemblable d'envisager que les conditions de la greffe chorio-allantoïdienne aient accentué la tendance que manifestent certaines cellules acidophiles vers la fin de l'incubation à se colorer à

la fois par l'érythrosine et l'orange G. Le tissu adénohypophysaire différencié en greffe chorio-allantoïdienne se caractérise également par l'absence complète de vésicules dans la plupart des greffons, alors que des vésicules se forment presque toujours quand l'ébauche évolue au contact des autres mésenchymes utilisés. Nous avons, par contre, retrouvé dans plus de la moitié des greffons un petit kyste cilié qui paraît correspondre à ceux que l'on rencontre au niveau du point d'insertion du canal stomodaeo-hypophysaire dans la partie ventrale du lobe céphalique. Nous avons d'ailleurs remarqué que le kyste était situé dans certains greffons au niveau d'une zone où les cellules cyanophiles étaient plus nombreuses (Planche XXII, fig. 2).

Les activités cholinestérasiques ont été recherchées dans le tissu adénohypophysaire différencié en greffe chorio-allantoïdienne. 10 greffons ont été étudiés, ils proviennent du développement de poches de Rathke prélevées sur des embryons âgés de 3 ou 4 jours. 2 greffons ont été prélevés après 8 jours de greffe et 8 greffons après 12 à 14 jours de greffe; le tissu adénohypophysaire formé dans les greffons peut donc être comparé respectivement à l'adénohypophyse d'embryons de 11 ou 12 jours et à celle d'embryons de 16 à 19 jours.

Les coupes effectuées au kryostat ont été incubées dans les mêmes conditions que les coupes d'adénohypophyses témoins en présence d'iodure d'acétylthiocholine (Ac. Th. Ch.) et d'iodure de butyrylthiocholine (Bu. Th. Ch.). Dans les deux cas, des activités importantes ont été mises en évidence (Planche XXIII). Les greffons prélevés après 8 jours de greffe montrent une activité plus forte que celle qui se manifeste dans l'adénohypophyse normale d'embryons de 11 jours. Cette activité se superpose aux cordons cellulaires qui se forment en greffe chorio-allantoïdienne et dont la structure lâche persiste; certains groupes de cellules se signalent par une activité particulièrement intense en présence d'Ac. Th. Ch. Cette activité se manifeste également au niveau des vaisseaux sanguins, le mésenchyme par contre en est complètement dépourvu. Comme pour l'adénohypophyse ayant évolué in situ cette activité est complètement inhibée par l'ésérine à la concentration de 10^{-5} M, il s'agit donc également d'activités cholinestérasiques. L'incubation préalable en présence de DFP à la concentration de 10^{-6} M inhibe très fortement ces activités qui sont donc essentiellement des activités cholinestérasiques non spécifiques. Toutefois, nous avons pu, après traitement par le

PLANCHE XXIII

(Embryon de poulet)

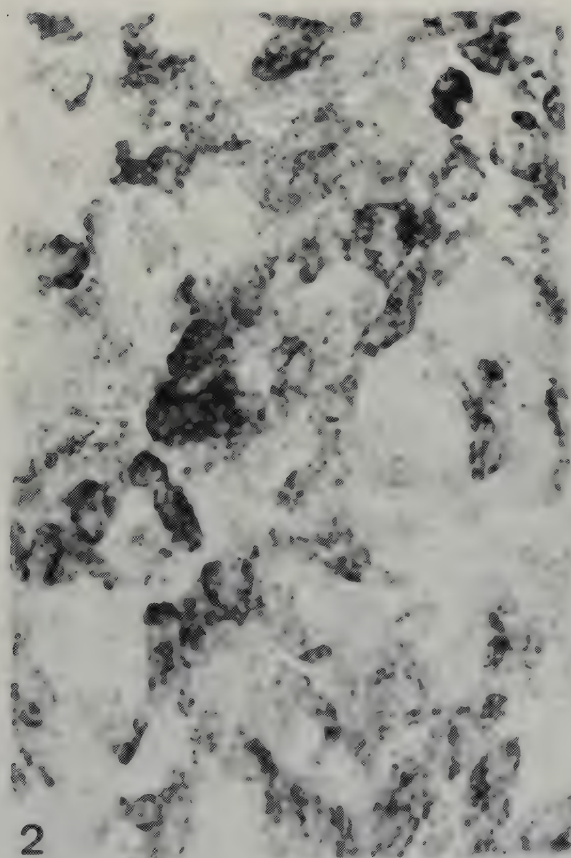
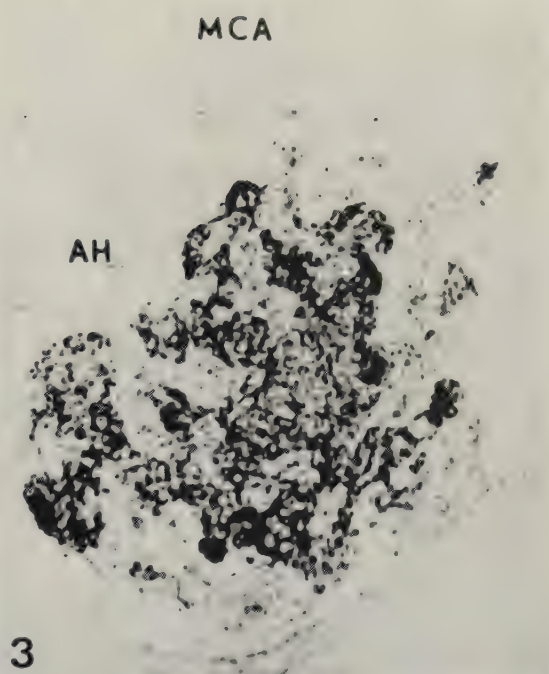
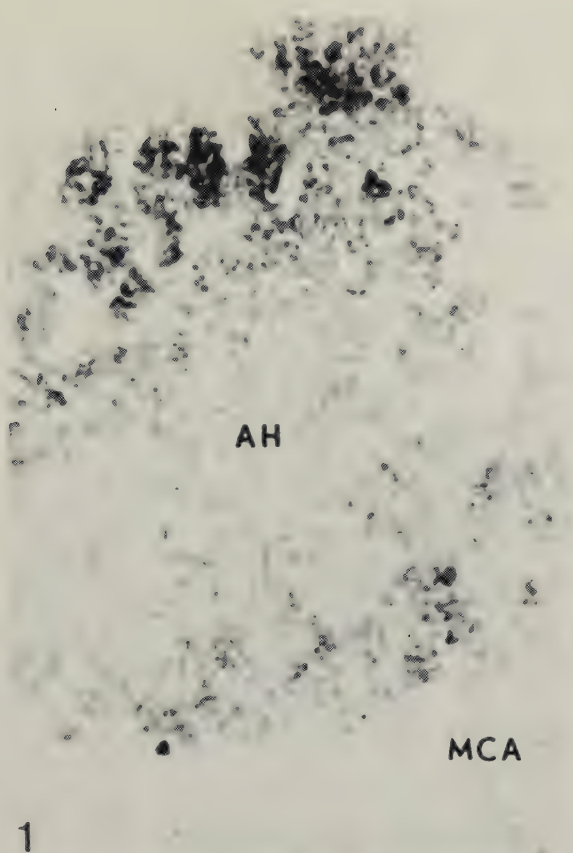
Fig. 1 - Activités cholinestérasiques manifestées par le tissu adénohypophysaire différencié en greffe chorio-allantoïdienne à partir d'une poche de Rathke prélevée au stade de 4 jours d'incubation. Durée de la greffe 14 jours. Substrat : iodure d'acétylthiocholine. G x 150.

Fig. 2 - Détail de la figure 1. Zone périphérique au niveau de laquelle les activités sont le plus importantes. G x 1000.

Fig. 3 - Activités cholinestérasiques manifestées par le tissu adénohypophysaire différencié en greffe chorio-allantoïdienne à partir d'une poche de Rathke prélevée au stade de 5 jours d'incubation. Durée de la greffe : 10 jours. Substrat : iodure de butyrylthiocholine. Le tissu adénohypophysaire montre une activité importante et homogène. L'activité cholinestérasique est très faible au niveau du mésenchyme. G x 150.

Fig. 4 - Détail de la figure 3. G x 1000.

AH : tissu adénohypophysaire ; MCA : mésenchyme chorio-allantoïdien.



DFP et incubation en présence d'Ac. Th. Ch. retrouver, sur certaines coupes, une zone qui se signale par son activité persistante, cette observation n'a pas été effectuée dans le cas des greffons prélevés après 8 jours de greffe. Cette activité persistante semble correspondre à celle que nous avons observée au niveau de la zone ventrale du lobe céphalique des adénohypophyses prélevées à partir du 15^e jour d'incubation. Par contre, la différence d'activité entre le lobe céphalique et le lobe caudal n'a pas été retrouvée. Cette observation rejoint celle qui a été faite au sujet de la répartition des types cellulaires, des cellules cyanophiles plus particulièrement.

Conclusion.

L'ébauche épithéliale de l'adénohypophyse isolée après le stade de 25 somites et placée en greffe coelomique après avoir été associée à différents mésenchymes hétérologues peut se différencier en tissu adénohypophysaire; cette différenciation est également obtenue quand l'ébauche est directement greffée dans la chorio-allantoïde. Des vésicules peuvent se former soit seules, soit mêlées au tissu adénohypophysaire, elles sont particulièrement nombreuses quand la poche de Rathke a été associée à des **mésenchymes** ventraux. Par contre, elles n'apparaissent que très rarement et restent de petite taille quand l'ébauche adénohypophysaire évolue au contact du mésenchyme allantoïdien.

Les conditions de la greffe chorio-allantoïdienne s'avèrent particulièrement favorables à l'évolution de la poche de Rathke; le tissu adénohypophysaire ainsi formé est homogène à la fois par sa structure et par la répartition des types cellulaires. Les activités cholinestérasiques essentiellement non spécifiques manifestées par ce tissu confirment cette homogénéité; la différenciation des activités cholinestérasiques non spécifiques peut s'effectuer en l'absence de contact entre les ébauches adénohypophysaires et hypothalamiques.

III. - Evolution de territoires épithéliaux voisins de l'ébauche adénohypophysaire au contact de mésenchymes hétérologues.

Que l'ébauche épithéliale de l'adénohypophyse soit prélevée avant le

stade de 25 somites et accompagnée ou non par du tissu nerveux ou qu'elle soit prélevée après le stade de 25 somites, des vésicules se forment en plus ou moins grand nombre soit seules, soit en présence de tissu adénohypophysaire. Nous nous sommes posé le problème de l'origine de ces vésicules; à priori, deux hypothèses pouvaient être envisagées. Les vésicules pouvaient se former à partir de territoires entraînés avec la poche de Rathke : poche de Seessel, épithélium endodermique ou ectodermique ou canal stomodaeohypophysaire quand l'ébauche adénohypophysaire a été prélevée le 5e jour de l'incubation. Les vésicules pouvaient également provenir d'une évolution particulière des cellules de la poche de Rathke qui, sous l'influence de certains mésenchymes, auraient pu être détournées de leur évolution normale; cette deuxième hypothèse paraissait d'autant plus plausible que la présence de kystes et de vésicules est assez courante dans l'adénohypophyse embryonnaire de poulet et également chez les Oiseaux adultes d'une façon générale (WINGSTRAND 1951). COLLIN (1926), OBOUSSIER (1948) et LEGAIT (1957) les ont décrits chez la Poule; RAHN (1939) et WINGSTRAND (1951) ont envisagé plusieurs origines pour ces formations. Pour WINGSTRAND les vésicules (au sens large) pourraient provenir soit de la lumière de la poche de Rathke, elles acquièrent des cils le 14e jour de l'incubation, fait également signalé par RAHN (1939) et VOIGT (1939), soit de grosses cellules muqueuses décrites par RAHN (1939) au milieu des cordons cellulaires et dont la présence a également été signalée par GRIGNON (1956), soit enfin d'acini contenant de la colloïde. WINGSTRAND (1951) fait remarquer, par ailleurs, que si les cellules muqueuses sécrètent du mucus dans les vésicules, ce mucus est de la même nature que celui sécrété au niveau du pharynx. Les cellules muqueuses et les cellules ciliées étant nombreuses au niveau des structures d'origine endodermique, on pouvait se demander si les mêmes cellules rencontrées dans l'adénohypophyse n'avaient pas pour origine la poche de Seessel également d'origine endodermique et qui contracte des rapports étroits avec la poche de Rathke à certains stades du développement.

La poche de Rathke ne montre aucune limite précise, sa paroi dorsale prolonge l'ectoderme et sa paroi ventrale l'endoderme par l'intermédiaire de la poche de Seessel et ceci jusqu'à la fin du 3e jour de l'incubation. Par la suite, au cours du 4e jour et même du 5e jour de l'incubation, il n'y a pas non plus de

limite entre le segment céphalique de l'ébauche adénohypophysaire et le canal stomodaeo-hypophysaire. Lors du prélèvement de l'ébauche, nous avons, au moins dans certains cas, entraîné une partie plus ou moins importante de ces épithéliums qui ont pu jouer un rôle dans la formation des vésicules observées dans de nombreux greffons; c'est ce que nous avons voulu vérifier en étudiant l'évolution de ces épithéliums, au contact de mésenchymes hétérologues, après les avoir séparés de la poche de Rathke. Le cas de la poche de Seessel sera exposé indépendamment dans le chapitre suivant.

1.) Evolution de fragments d'ectoderme et d'endoderme contigus

à l'ébauche adénohypophysaire.

La poche de Rathke et la poche de Seessel ont été isolées après action de la trypsine, chez des embryons à des stades compris entre 17 somites et 3 jours d'incubation (Planche XXIV, fig. 1), de telle sorte que l'ébauche soit accompagnée de lambeaux appartenant d'une part à l'ectoderme et d'autre part à l'endoderme. Chacun de ces épithéliums a ensuite été séparé de la poche de Rathke et de la poche de Seessel.

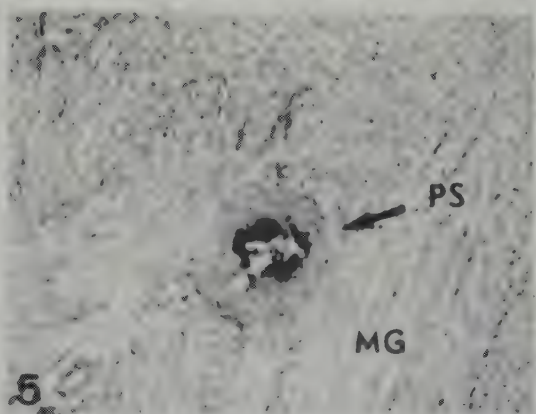
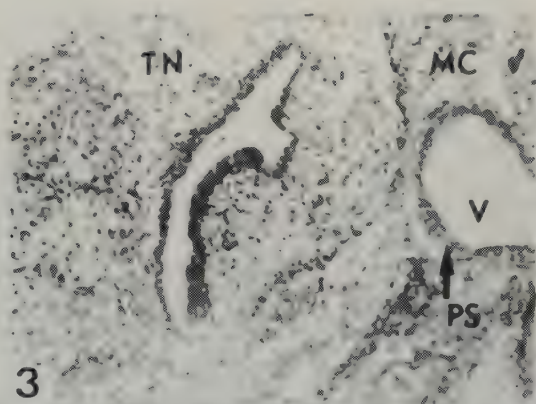
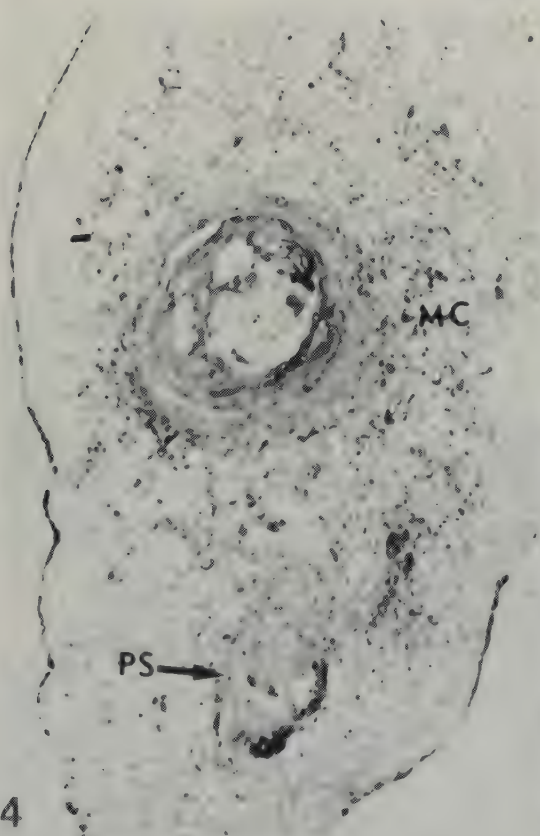
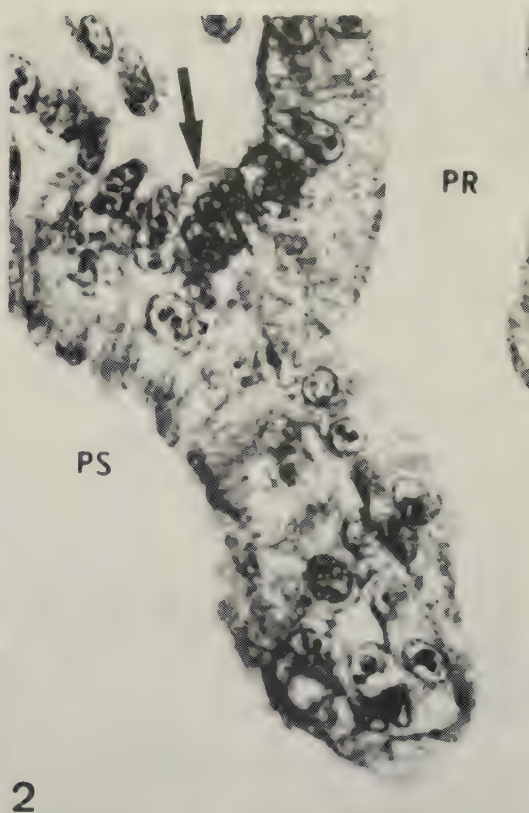
Dans la première série expérimentale, les fragments d'ectoderme, prélevés chez des embryons à des stades compris entre 25 somites et 3 jours d'incubation, ont été associés à du mésenchyme céphalique hétérologue; 9 greffons ont pu être examinés.

Dans la deuxième série expérimentale, les fragments d'ectoderme prélevés chez des embryons à des stades compris entre 17 somites et 24 somites, ont également été placés au contact de mésenchyme céphalique hétérologue mais seulement après avoir été associés au plancher prosencéphalique provenant d'embryons de même âge ; 8 greffons ont été étudiés.

Quelle que soit la série expérimentale, l'ectoderme a constitué des vésicules ou de la peau ou ces deux tissus selon les greffons. L'évolution de l'ectoderme est tout à fait comparable à celle de l'ébauche adénohypophysaire

PLANCHE XXIV
(Embryon de poulet)

- Fig. 1 - Coupe montrant une fusion des parois de la poche de Rathke et de la poche de Seessel chez un embryon de 3 jours. Le trait noir indique le niveau auquel la paroi de la poche de Rathke a été sectionnée afin de la séparer de la poche de Seessel. Les flèches montrent les territoires épithéliaux endodermique et ectodermique qui ont été isolés et associés à différents mésenchymes hétérologues avant d'être placés en greffe coelomique. Hématoxyline et éosine. G x 240.
- Fig. 2 - Détail de la figure 1. La paroi de la poche de Rathke et la paroi de la poche de Seessel sont fusionnées. On ne distingue aucune séparation (flèche) au niveau de la zone de contact. Les deux poches n'ont pas pu être séparées après action de la trypsine, il a été nécessaire de sectionner la paroi de la poche de Rathke. G x 1000.
- Fig. 3 - 2 poches de Seessel, prélevées au stade de 20 somites ont été associées in vitro, au plancher encéphalique provenant d'un embryon de même âge, en présence de mésenchyme céphalique hétérologue. Placé en greffe coelomique, le mésenchyme de l'explant a proliféré mais les 2 poches de Seessel se sont très peu développées, elles forment une vésicule. Tétrachrome. G x 100.
- Fig. 4 - 3 poches de Seessel, prélevées au stade de 31 somites ont été associées à du mésenchyme céphalique hétérologue puis placées en greffe coelomique. Elles ont formé un petit massif cellulaire accompagné de 2 vésicules. Tétrachrome. G x 100.
- Fig. 5 - 2 poches de Seessel, prélevées au stade de 21 somites, ont été associées in vitro à du mésenchyme de gésier provenant d'un embryon âgé de 6 jours. Les 2 poches de Seessel ont formé une vésicule à paroi épaisse dont les cellules ont sécrété du matériel APS positif. APS et hématoxyline. G x 100.
- Ect : ectoderme ; End : endoderme ;
MC : mésenchyme céphalique hétérologue ; MG : mésenchyme de gésier ;
Pl : plancher diencéphalique ; PR : poche de Rathke ; PS : poche de Seessel ;
TN : tissu nerveux formé en greffe par le plancher diencéphalique ; V : vésicule.



prélevée avant le stade de 25 somites et ayant évolué sans contact avec le plancher prosencéphalique ; elle est comparable également à celle de l'ectoderme présomptif prélevé à des stades compris entre 12 et 17 somites et séparé du prosencéphale. La présence du plancher prosencéphalique ne modifie pas cette évolution en vésicules de l'ectoderme contigu à la poche de Rathke, la taille et le nombre des vésicules sont toutefois réduits.

Les fragments d'endoderme ont été associés à du mésenchyme de gésier ; ils ont été prélevés soit chez des embryons à des stades de 25 à 35 somites, au voisinage de la poche de Seessel, soit le 6e jour de l'incubation, au voisinage du canal stomodaeo-hypophysaire. Nous avons pu examiner respectivement 3 et 5 greffons. Dans tous, du tissu épithélial a été retrouvé, le mésenchyme de gésier s'organise en couches concentriques à la périphérie des vésicules dont la structure est de type digestif. Les vésicules sont particulièrement développées et les greffons sont volumineux quand l'endoderme provient d'embryons de 6 jours d'incubation.

2.) Evolution du canal stomodaeo-hypophysaire.

Jusqu'au 5e jour de l'incubation le canal stomodaeo-hypophysaire n'est pas bien individualisé, encore large il prolonge le segment céphalique de la poche de Rathke jusqu'à la cavité buccale. Le 6e jour de l'incubation, ce canal au contraire est bien individualisé et c'est à ce stade que nous en avons prélevé un segment qui a été associé in vitro à du mésenchyme de gésier. 12 greffons ont été étudiés, ils sont pour la plupart volumineux. Au contact du mésenchyme de gésier, le canal stomodaeo-hypophysaire réagit comme l'épithélium buccal, il forme une structure digestive. L'épithélium qui constitue des villosités est doublé par une tunique musculaire.

Conclusion.

Les territoires épithéliaux contigus à l'ébauche adénohypophysaire, associés à des mésenchymes hétérologues, forment des vésicules. La présence du plancher prosencéphalique ne modifie pas cette évolution dans le cas de

l'ectoderme prosencéphalique ce qui montre que le territoire compétent pour former du tissu adénohypophysaire est strictement limité. Les vésicules qui apparaissent avec le tissu adénohypophysaire qui se différencie en greffe coelomique au contact des mêmes mésenchymes, semblent donc pouvoir provenir de ces territoires épithéliaux. Toutefois, seule l'étude de l'évolution de la poche de Seessel et de la poche de Rathke séparées d'une part l'une de l'autre et d'autre part de l'endoderme et de l'ectoderme contigus pouvait confirmer ce résultat.

IV. - Evolution de la poche de Rathke et de la poche de Seessel isolées l'une de l'autre.

Dans le cas de l'embryon de poulet, si l'on excepte SAINT-REMY (1895), la plupart des auteurs admettent que l'adénohypophyse se forme à partir de la seule poche de Rathke : DUVAL (1899), PFEIFFER (1925 a), LILLIE (1930), RAHN (1938, 1939), PATTEN (1946), WINGSTRAND (1951), GRIGNON (1956). Toutefois une éventuelle participation de l'endoderme, très limitée, n'est pas exclue par BRUNI (1915), ATWELL (1916). MIHALKOVICS (1875) chez l'Oie et ROST (1939) chez le Pigeon admettent également l'origine unique de l'adénohypophyse.

Chez le Canard les opinions sont plus nuancées. PFEIFFER (1925, a, b, c) fait une distinction entre l'adénohypophyse du poulet d'origine purement ectodermique et celle du canard qui aurait une origine mixte ; des phénomènes mécaniques, liés au développement de la tête, expliqueraient cette différence. La possibilité d'une participation de la poche de Seessel à l'édification de l'adénohypophyse est admise par LUPS (1929) mais elle n'est pas considérée comme certaine : elle est en effet basée sur le fait que certaines coupes histologiques intéressant des embryons de 3 jours d'incubation, ne montrent pas de limite précise entre l'ectoderme de la poche de Rathke et l'endoderme de la poche de Seessel. La même observation a été effectuée par FRIEDMAN (1934) qui comme GILBERT (1935) dans le cas d'embryons de Mammifères souligne le fait que les dérivés des feuilletts embryonnaires sont étroitement associés au niveau de l'ébauche présomptive adénohypophysaire. Les études de ASSENMACHER (1952) ont confirmé cette observation

et cet auteur écrit au sujet du mésenchyme préchordal tel qu'il se présente chez un embryon de canard au stade de 66 heures : "le mésenchyme préchordal atteint une densité telle, dans cette région et est accolé si intimement aux ébauches ecto et entodermiques, qu'à première vue on a l'impression d'une fusion totale entre les 3 feuilletts". ASSENMACHER précise toutefois qu'une fine basale est visible à certains endroits et qu'elle existe probablement sur toute l'étendue de la zone de contact. Nous avons nous-même observé de telles images chez l'embryon de caille (Planche III, fig. 4). Par ailleurs, ASSENMACHER (1952) décrit au stade de 96 heures et de 108 heures un contact particulier entre la poche de Seessel et la poche de Rathke, dû à un bourgeonnement des parois de ces deux formations. Des images comparables ont été décrites par WINGSTRAND (1951) et GRIGNON (1956) précise que chez l'embryon de poulet, une fusion entre les parois contiguës de la poche de Seessel et de la poche de Rathke peut être observée sur quelques coupes, ce que nous avons également remarqué (Planche XXIV, fig. 1 et 2). L'existence d'une fusion entre les parois de la poche de Rathke et de la poche de Seessel ne permet pas d'éliminer l'éventualité d'une participation des cellules endodermiques de cette dernière à la genèse de l'adénohypophyse ; cette participation, en tout état de cause, ne pouvant être que très limitée (ASSENMACHER 1952).

Il nous a paru intéressant de voir si d'une part, la poche de Seessel pouvait, comme la poche de Rathke, proliférer de façon importante au contact d'un mésenchyme hétérologue et si d'autre part, l'évolution de la poche de Seessel isolée pouvait être influencée par un contact direct avec le plancher prosencéphalique. Il était également nécessaire de vérifier si l'évolution de la poche de Rathke isolée était identique à celle qui avait lieu en présence de la poche de Seessel ou bien si cette évolution était différente notamment en ce qui concerne la différenciation des types cellulaires et la formation de vésicules.

1.) Prélèvement et séparation de la poche de Seessel et de la

poche de Rathke.

La poche de Seessel et la poche de Rathke ont été prélevées chez des embryons à des stades compris entre 17 somites et 3 jours d'incubation (stades

14 à 18 de HAMBURGER et HAMILTON).

Un séjour dans la solution de trypsine limité à 30 minutes s'est avéré suffisant dans la plupart des cas pour permettre le prélèvement et la séparation des deux poches jusqu'aux stades de 25 à 27 somites. Par contre, pour les embryons plus âgés, cette durée a été augmentée sans que l'action de la trypsine puisse permettre une dissociation de la poche de Rathke et de la poche de Seessel dans de bonnes conditions. On sait que l'absence des ions calcium et magnésium associée à l'action de la trypsine entraîne le décollement des feuillets et même la séparation des cellules si cette action s'exerce suffisamment longtemps. Nous avons pu constater que l'action de la trypsine, même prolongée, ne permettait pas la séparation de la poche de Rathke et de la poche de Seessel ce qui confirme l'existence d'une véritable fusion entre les deux formations (Planche XXIV, fig. 1 et 2) , la présence d'une membrane basale aurait en effet permis la séparation des 2 poches. Nous avons dû intervenir à l'aide de micro-scalpels et nous nous sommes efforcé de sectionner la paroi de la poche de Rathke de façon à ce que la zone de fusion reste accolée à la poche de Seessel, Dans ces conditions, la poche de Rathke n'est pas accompagnée par du tissu endodermique. Par ailleurs, nous avons éliminé le plus possible les tissus voisins, l'ectoderme dans le cas de la poche de Rathke et l'endoderme dans le cas de la poche de Seessel. Les 2 formations, ainsi isolées, étaient de très petite taille et nous les avons regroupées par 2 ou par 3 en les associant in vitro à un mésenchyme hétérologue.

2.) Evolution de la poche de Seessel isolée.

La poche de Seessel a été associée soit à des mésenchymes céphaliques (homologue et hétérologue) en présence ou non du plancher prosencéphalique soit à du mésenchyme de gésier (Tableau V ; Planche XXIV, fig. 3, 4 et 5).

La poche de Seessel, isolée avant le stade de 25 somites et associée au plancher prosencéphalique de même âge qu'elle, au sein d'un mésenchyme céphalique, n'évolue pas ou très peu. 27 greffons ont pu être étudiés, 11 n'ont

Associations réalisées	Nombre de greffons étudiés	Absence de formations épithéliales	Présence de formations épithéliales
Endod. ou P.S. 17 - 25 som. + P L. prosenceph. + més. céphalique	27	11	16
2 ou 3 P.S. 25 som. à 3 jours + més. céphalique	17	10	7
2 ou 3 P.S. 25 som. à 3 jours + més. gésier	7	2	5

Tableau V

Evolution de la poche de Seessel séparée de la poche de Rathke

pas permis de retrouver de formation épithéliale et 16 ont montré soit quelques îlots cellulaires soit une seule ou plusieurs vésicules à paroi mince et de taille variable (Planche XXIV, fig. 3). L'évolution de 2 ou 3 poches de Seessel, isolées après le stade de 25 somites et associées au sein des mêmes mésenchymes, est tout à fait comparable : 7 greffons sur 17 ont seuls montré des formations épithéliales que ce soit de petites vésicules ou de petits massifs cellulaires (Planche XXIV, fig. 4).

La poche de Seessel étant d'origine endodermique on aurait pu penser que, placée au contact d'un mésenchyme digestif comme le mésenchyme de gésier, elle pouvait proliférer. En fait, les 7 greffons de ce type que nous avons examinés nous ont permis d'observer des vésicules dans 5 d'entre eux. Ces vésicules sont petites, leur paroi épaisse est de type digestif. La plupart des greffons étudiés dans ces séries expérimentales sont de taille réduite. (Planche XXIV, fig. 5).

3.) Evolution de la poche de Rathke isolée.

Les poches de Rathke isolées à des stades compris entre 17 et 35 somites étaient de très petite taille par suite de notre tentative d'éliminer l'ectoderme et l'endoderme ne faisant pas partie de l'ébauche. Les poches de Rathke ont été regroupées par 2 ou 3 selon les explants et associées à du mésenchyme céphalique hétérologue.

9 greffons comportant le plancher prosencéphalique et des ébauches prélevées à des stades compris entre 17 et 24 somites ont pu être examinés : aucune formation épithéliale n'a été retrouvée dans 3 d'entre eux, les 6 autres ont présenté du tissu adénohypophysaire peu développé (Planche XXV, fig. 1).

26 greffons comportant des ébauches prélevées à des stades compris entre 25 et 35 somites ont été retrouvés. Aucune formation épithéliale n'a été observée dans 6 greffons ; 12 ont présenté des vésicules et 8 du tissu adénohypophysaire (Planche XXV, fig. 2) , peu développé il se présente sous forme d'ilôts associés à des vésicules. Des cellules acidophiles et cyanophiles ont été mises en évidence, elles sont parfois peu nombreuses. Ce résultat apparaît moins bon que celui qui a été obtenu lorsque la poche de Rathke et la poche de Seessel n'ont pas été séparées puisque dans ce dernier cas du tissu adénohypophysaire s'est formé dans 14 greffons sur 36 (Tableau III). On peut de ce fait se poser la question de la participation de la poche de Seessel à la genèse du tissu adénohypophysaire. Il ne nous semble pas toutefois qu'il faille voir là l'explication du fait que la poche de Rathke isolée se développe moins bien et dans un nombre de greffons plus réduit que lorsqu'elle évolue en conservant ses relations avec la poche

de Seessel. Ce résultat peut s'expliquer par le fait que d'une part l'action de la trypsine a été prolongée et que d'autre part, la séparation de la poche de Seessel et de la poche de Rathke a nécessité, dans la plupart des cas, une intervention mécanique qui a abouti à amputer légèrement la poche de Rathke et qui de toute façon a provoqué un traumatisme dont l'importance ne peut pas être appréciée. D'ailleurs si l'on compare les structures vésiculaires formées à partir de la poche de Seessel et de la poche de Rathke, isolées à des stades compris entre 17 et 35 somites, aux structures vésiculaires formées à partir de ces ébauches prélevées aux mêmes stades mais maintenues en contact, on constate qu'elles sont moins importantes dans le premier cas (Planche XXV, fig. 3 et 4 et Planche XIII, fig. 1). Cette observation confirme que la poche de Seessel et la poche de Rathke ont pu subir des dommages qui ont amoindri leurs capacités de prolifération.

4.) Evolution de l'ébauche adénohypophysaire isolée le 6e jour

de l'incubation et associée à du mésenchyme de gésier.

Chez les embryons de 6 jours d'incubation, le canal stomodaeo-hypophysaire est bien individualisé. La poche de Seessel s'est transformée en un bourgeon plein situé près de la base du canal stomodaeo-hypophysaire. Il est donc possible de prélever l'ébauche adénohypophysaire sans entraîner de formations épithéliales. L'action de la trypsine permet de séparer le mésenchyme entourant l'ébauche ; par contre à ce stade, la prolifération des bourgeons cellulaires a abouti à emprisonner une certaine quantité de mésenchyme homologue qu'il n'est évidemment pas possible d'éliminer. L'ébauche, ainsi isolée, a été associée in vitro à du mésenchyme de gésier provenant des mêmes embryons âgés de 6 jours. 8 greffons ont été étudiés, ils ont tous montré du tissu adénohypophysaire bien différencié, les différents types cellulaires ont été reconnus. Ce tissu, le plus souvent dense, est toujours accompagné de vésicules en nombre variable dont les parois parfois minces sont le plus souvent

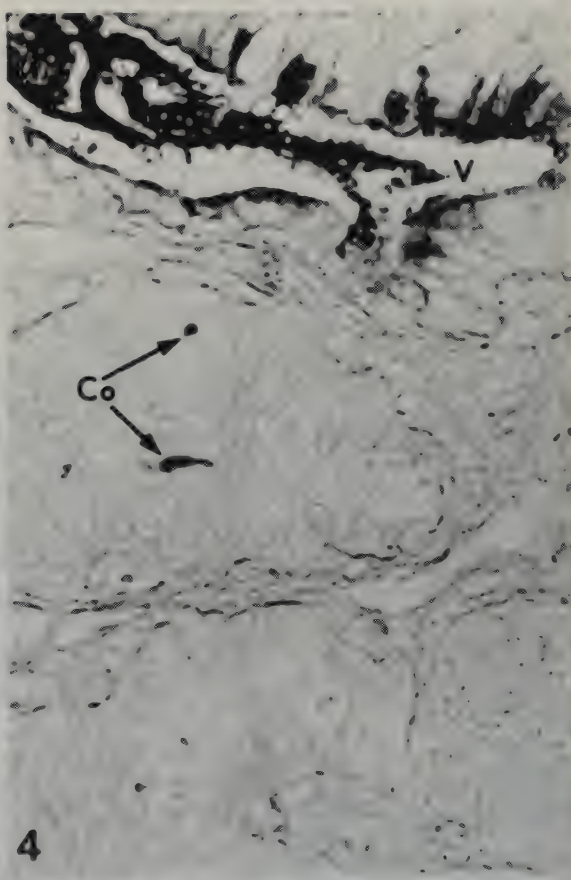
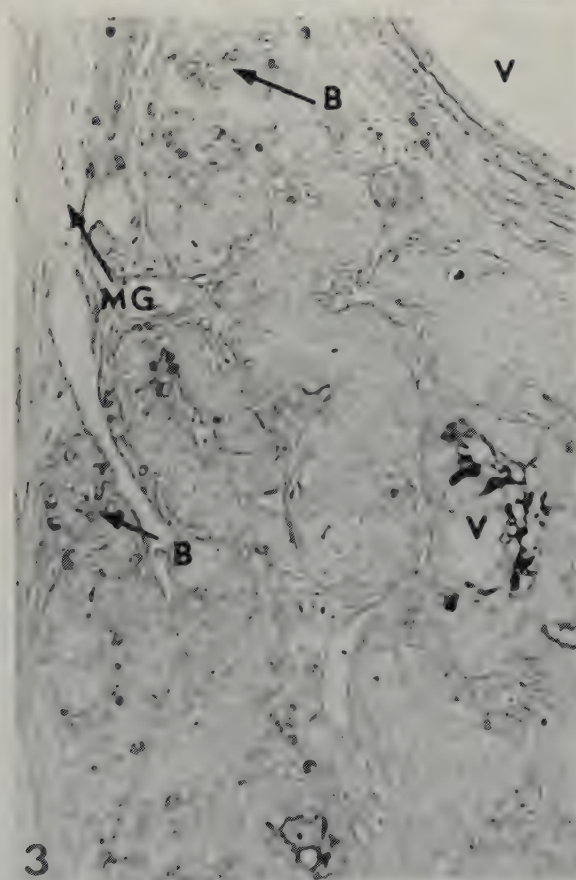
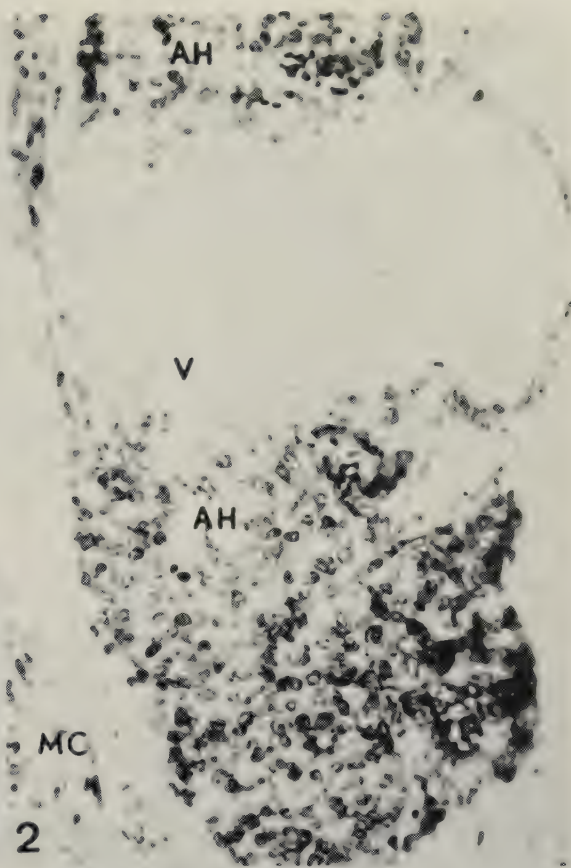
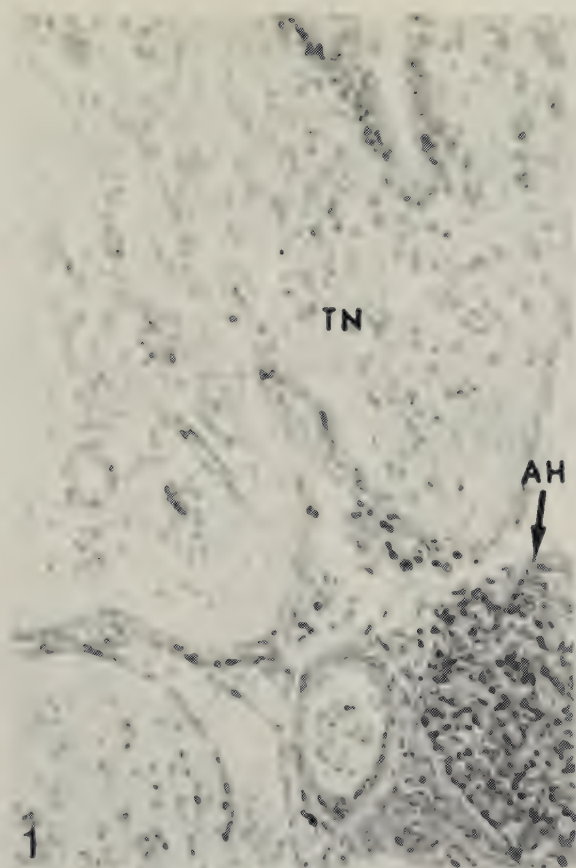
PLANCHE XXV
(Embryon de poulet)

Fig. 1 - La poche de Rathke a été prélevée et séparée de la poche de Seessel au stade de 22 somites. Elle a été réassociée in vitro au plancher prosencéphalique prélevé sur le même embryon, en présence de mésenchyme céphalique hétérologue, puis placée en greffe coelomique. La poche de Rathke a formé un îlot de tissu adénohypophysaire dense et de petite taille. Tétrachrome. G x 240.

Fig. 2 - Tissu adénohypophysaire formé en greffe coelomique à partir de 2 poches de Rathke prélevées au stade de 32 somites et séparées de la poche de Seessel. Les 2 ébauches ont été préalablement associées in vitro à du mésenchyme céphalique hétérologue. Le tissu formé est dense, il est accompagné d'une vésicule et montre des cellules cyanophiles et acidophiles. Tétrachrome. G x 330.

Fig. 3 et 4 - Tissu adénohypophysaire formé à partir d'une ébauche prélevée au stade de 6 jours d'incubation et associée à du mésenchyme de gésier. L'ébauche a proliféré de façon importante et il est possible de reconnaître une "zone céphalique (Fig. 3) d'une zone caudale (Fig. 4). Des vésicules à paroi épaisse se sont formées à partir du parenchyme adénohypophysaire. APS. Fig. 3, G x 240 ; Fig. 4, G x 350.

AH : tissu adénohypophysaire ; B : cellules APS positives différenciées dans la zone céphalique ; Co : gouttelettes de colloïde ; MC : mésenchyme céphalique ; MG : mésenchyme de gésier ; TN : tissu nerveux prosencéphalique ; V : vésicules



de type digestif. La présence d'un mésenchyme digestif favorise donc l'apparition de ces structures vésiculaires qui, dans ce cas, ne peuvent provenir que de l'ébauche adénohypophysaire (Planche XXV, fig. 3 et 4).

Conclusion .

La poche de Rathke, isolée de la poche de Seessel après le stade de 25 somites, peut se différencier en tissu adénohypophysaire au contact d'un mésenchyme hétérologue.

La poche de Seessel séparée de la poche de Rathke n'évolue pas ou très peu même en présence du plancher prosencéphalique ou de mésenchyme digestif.

Des vésicules peuvent se former à partir de la poche de Rathke isolée à des stades compris entre 25 somites et 3 jours d'incubation et à partir de l'ébauche adénohypophysaire prélevée le 6^e jour de l'incubation et placée au contact de mésenchyme de gésier. Ces vésicules dérivent donc au moins en partie de l'épithélium adénohypophysaire.

V. - Evolution en greffe coelomique ou chorio-allantoïdienne des segments céphalique et caudal de la poche de Rathke.

L'évolution particulière de la poche de Rathke greffée dans la chorio-allantoïde posait un problème. En ce qui concerne les cellules acidophiles on pouvait envisager, comme nous l'avons indiqué, une variation de la chromophilie qui n'était d'ailleurs pas fondamentalement différente de celle de l'adénohypophyse ayant évolué in situ. Par contre la présence de cellules cyanophiles de grande taille et en grand nombre dans la totalité du greffon tranche avec leur localisation dans l'adénohypophyse. Rappelons que pour TIXIER-VIDAL (1954; 1958) ces cellules sont presque exclusivement céphaliques, pour GRIGNON (1956) elles sont présentes dans le lobe caudal mais rares et de petite taille. Nous avons précisé que, dans les adénohypophyses que nous avons étudiées, des cellules cyanophiles, faiblement APS positives, très rares et de petite taille, ont été observées dans le lobe caudal seulement vers la fin de l'incubation.

Quelle pouvait, dans ces conditions, être l'origine des cellules cyanophiles qui se différencient à partir de la poche de Rathke greffée dans la chorio-allantoïde ? Deux hypothèses pouvaient être envisagées. Ou bien au cours de la prolifération des parois de la poche de Rathke, les cordons cellulaires, du fait de la présence d'un mésenchyme extrêmement lâche, auraient proliféré en se mêlant, les cellules "céphaliques" et "caudales" ne pouvant plus de ce fait être distinguées. Ou bien les conditions de la greffe chorio-allantoïdienne auraient favorisé la différenciation des cellules cyanophiles caudales qui auraient évolué plus vite qu'elles ne le font in situ.

Pour répondre à cette question nous avons isolé le segment caudal du segment céphalique, dans le cas de poches de Rathke de caille et de poulet, et nous avons constitué in vitro divers types d'explants dont l'évolution a été ensuite obtenue en greffe coelomique ou en greffe chorio-allantoïdienne (FERRAND, 1971 a et b). Pour isoler le segment caudal du segment céphalique nous avons mis à profit la division nette, en 2 parties, de la poche de Rathke au cours du 5e jour de l'incubation chez l'embryon de poulet et chez l'embryon de caille (Planche XXVI, fig. 1 et 2). Il existe peu de différence jusqu'au 5e jour de l'incubation entre l'évolution de la poche de Rathke du poulet et celle de la caille. Elle est, dans ce dernier cas, légèrement plus rapide, c'est pourquoi nous avons utilisé des oeufs de caille dont la mise en incubation a été retardée de 6 à 10 heures par rapport à celle des oeufs de poule. Rappelons que le segment caudal, au stade considéré, se présente comme une vésicule dont la paroi est encore peu épaisse ; cette vésicule est reliée par une zone rétrécie au segment céphalique qui communique lui-même encore largement avec le canal stomodaeo-hypophysaire (Planche XXVI, fig. 2). La lumière existe dans les deux segments de la poche de Rathke mais elle est réduite au niveau de la communication entre les 2 lobes. Toutefois, il convient de remarquer que pour un stade donné, l'ébauche peut se présenter de façon sensiblement différente, c'est en particulier le cas ici. La partie qui relie les deux segments peut être relativement étroite ou, au contraire, être presque aussi large que les segments céphalique et caudal. Nous n'avons utilisé, au cours de cette expérience, que les ébauches qui montraient deux segments bien séparés. La courbure de l'ébauche n'est encore que peu marquée (Planche XXVI, fig. 1) ou même non apparente.

Il est bien établi que le lobe céphalique de l'adénohypophyse se forme à partir du segment céphalique de la poche de Rathke et le lobe caudal à partir du segment caudal. WINGSTRAND (1951) envisage une participation de la zone rétrécie, qui relie les deux segments, aussi bien à la formation du lobe céphalique qu'à celle du lobe caudal. Le développement de la poche de Rathke montre que cette zone prolifère moins vite que les lobes, un sillon nettement marqué chez le Poulet, persiste à ce niveau ; nous avons vu que la présence des carotides internes et de leur anastomose était vraisemblablement impliquée dans la persistance de cette bipartition morphologique.

Le problème qui nous intéressait étant la différenciation, à partir du segment caudal, de cellules APS positives nous avons choisi de l'isoler en effectuant une section à un niveau tel que la partie correspondant au rétrécissement reste adhérente au segment céphalique (Planche XXVI, fig. 1 et 2), de sorte que le segment caudal ne comporte pas de partie de l'ébauche qui, in situ, participe à la formation du lobe céphalique. Le volume de chaque segment étant très réduit il s'est avéré difficile de les placer en greffe chorio-allantoïdienne. C'est pourquoi, à partir des segments céphaliques et caudaux isolés, nous avons réalisé les associations suivantes in vitro (Tableau VI) :

(a) Segment céphalique de poche de Rathke de caille et segment caudal de poche de Rathke de poulet (Planche XXVI, fig. 3).

(b) Segment caudal de poche de Rathke de caille et segment céphalique de poche de Rathke de poulet (Planche XXVI, fig. 4).

(c) Trois segments caudaux de poche de Rathke de poulet.

(d) Trois segments céphaliques de poche de Rathke de poulet.

Ces quatre types d'explants ont été greffés dans la chorio-allantoïde d'embryons de 6 jours. Par ailleurs, des explants (a') et (b') comportant les mêmes types d'associations que (a) et (b) ont été constitués mais en présence de mésenchyme céphalique hétérologue ; ces explants (a') et (b') ont été greffés dans le coelome d'embryons de 3 jours et demi (Planche XXVI, fig. 5 et 6).

Nature de la greffe	Associations réalisées	Nombre de greffons étudiés	Présence de tissu adénohypoph.	Cellules cyanophiles		
				nom-breuses	rarees	absentes
Chorio-allantoïdienne	(a) S.caud. Po	13	12	8	3	1
	S.céph. Ca		11	11	0	0
	(b) S.céph. Po	14	13	13	0	0
	S.caud. Ca		13	11	1	1
	(c) 3S.caud. Po	12	12	8	2	2
	(d) 3S.céph. Po	11	10	10	0	0
Coelomique en présence de mésenchyme céph. hétérologue	(a') S.caud. Po	11	9	0	3	6
	S.céph. Ca		9	8	1	0
	(b') S.céph. Po	10	8	8	0	0
	S.caud. Ca		8	2	3	3

Tableau VI

Evolution en greffe des segments céphalique et caudal
de l'ébauche adénohypophysaire.

1.) Evolution des explants constitués par des associations

interspécifiques.

Dans le cas des associations interspécifiques le lobe caudal et le lobe céphalique ont été reconnus grâce à la morphologie particulière des noyaux de caille qui a été étudiée par N. LE DOUARIN (1969) et N. LE DOUARIN et BARQ (1969). Par rapport aux noyaux des cellules de poulet dont la chromatine est dispersée, les cellules de caille présentent une masse nucléolaire unique et volumineuse. Comme le montrent les figures 2, 3 et 4 de la planche XXII, les techniques histologiques que nous avons utilisées permettent d'effectuer facilement la distinction entre les deux types de cellules.

L'étude des greffons formés à partir des associations interspécifiques (a) et (b) montre que les segments céphalique et caudal de l'ébauche adénohypophysaire de caille ou de poulet ont proliféré et donné des cordons lâches comme cela est le cas lorsque l'ébauche entière est greffée dans la chorio-allantoïde. Dans le cas des associations (a') et (b'), le tissu adénohypophysaire formé en greffe coelomique et en présence de mésenchyme hétérologue est plus dense.

Dans tous les greffons, les tissus de caille et de poulet se sont développés côte à côte sans qu'il y ait eu d'interpénétration notable. Les tissus peuvent être simplement juxtaposés et plus ou moins séparés par du mésenchyme allantofidien ou des sinusoides sanguins quand ils ont évolué en greffe chorio-allantoïdienne. Le plus souvent ils sont soudés mais même dans ce dernier cas, les cordons cellulaires ne sont pas ou que très peu mélangés ; on rencontre, seulement à la périphérie du greffon, quelques cordons ou quelques flots de cellules adénohypophysaires appartenant à une espèce et entourés de cordons cellulaires appartenant à l'autre espèce. Cette observation n'a d'ailleurs été effectuée que lorsque les tissus ont évolué en greffe chorio-allantoïdienne. Nous n'avons jamais observé de cellules d'une espèce incorporées à des cordons cellulaires appartenant à l'autre espèce.

PLANCHE XXVI

Fig. 1 - Poches de Rathke prélevées chez des embryons de poulet le 5^e jour de l'incubation. On distingue le segment céphalique et le segment caudal reliés par une zone rétrécie et les 2 lobes latéraux qui prennent naissance sur le lobe céphalique et formeront la pars tuberalis. Il existe également un diverticule sur la face ventrale du segment céphalique mais il n'est pas apparent sur cette photographie. L'épithélium qui relie le segment céphalique au pharynx forme une sorte de bourrelet à l'issue du séjour dans la trypsine. La poche de Rathke (A) montre que, à ce stade, le segment céphalique et le segment caudal forment un angle encore peu marqué. Le trait indique le niveau de la section pratiquée. G x 35.

Fig. 2 - Poche de Rathke d'un embryon de caille au stade de 5 jours d'incubation. Cette coupe parasagittale ne passe pas par la lumière qui fait communiquer le segment céphalique et le segment caudal qui de ce fait apparaissent séparés par une cloison. La flèche indique le niveau de la section effectuée. Hématoxyline et éosine. G x 100.

Ep : épithélium reliant la poche de Rathke au pharynx ; IA : anastomose inter-carotidienne ; PS : poche de Sessel ; Pl : plancher diencéphalique ; SCa : segment caudal de la poche de Rathke ; SCe : segment céphalique de la poche de Rathke.

La confrontation des résultats concernant les greffons (a), (b), (a') et (b') permet de voir que, au niveau des zones correspondant aux lobes céphaliques, les cellules cyanophiles se différencient en grand nombre, leur différenciation ne diffère pas sensiblement de celle qui a lieu in situ en ce qui concerne les cellules de poulet des greffons (b) et (b'). Ces cellules sont, dans l'ensemble, mieux différenciées dans les greffons qui ont évolué en greffe chorio-allantoïdienne bien que la durée de greffe, 11 à 13 jours, soit légèrement moins longue que celle de la greffe coelomique (12 à 14 jours). Il convient de remarquer que nous n'avons pu qu'apprécier le nombre de cellules cyanophiles ; en effet si des comptages et des comparaisons rigoureuses sont possibles entre des coupes sagittales d'adénohypophyses différentes il n'en est pas de même dans le cas de l'étude des greffons et des adénohypophyses témoins.

Les cellules cyanophiles du lobe céphalique de l'adénohypophyse de caille sont particulièrement bien différenciées (Planche XXVI, fig. 3), leur réaction à l'APS est généralement plus intense que celle des cellules de poulet. Comme nous l'avons précédemment indiqué, l'explication semble pouvoir être fournie par l'âge du tissu de caille qui atteint et même excède la durée normale de l'incubation chez cet oiseau (16 jours) alors qu'il n'en est pas de même dans le cas du tissu adénohypophysaire de poulet.

Le tissu adénohypophysaire correspondant au lobe caudal montre des cellules cyanophiles (Planche XXVI, fig. 3) quand ce tissu a évolué en greffe chorio-allantoïdienne : dans 8 greffons (a) les lobes caudaux de l'adénohypophyse de poulet montrent des cellules APS positives nombreuses, dans 3 elles sont rares et dans 1 seul totalement absentes. Ces cellules demeurent toutefois moins nombreuses et sont présentes dans un nombre plus réduit de greffons que les cellules APS positives qui se différencient dans le lobe céphalique du greffon (b). Il faut remarquer par ailleurs que le "tissu adénohypophysaire caudal" est d'une façon générale un peu moins développé que le "tissu céphalique". (Planche XXVI, fig. 3).

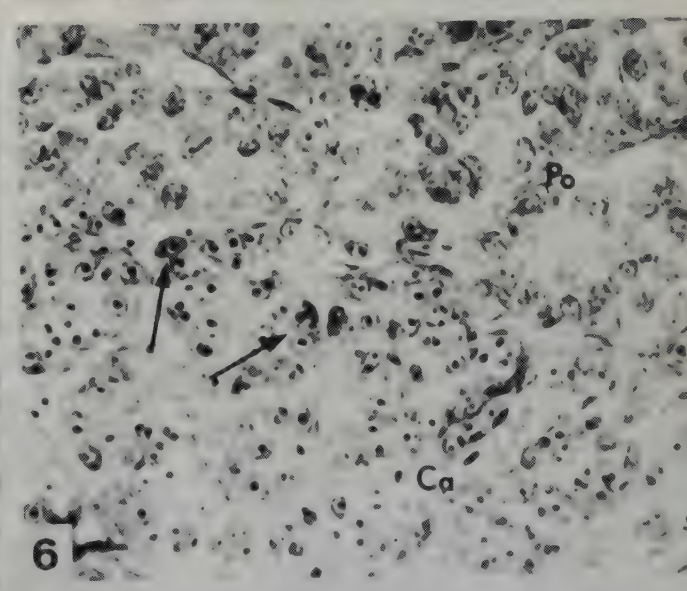
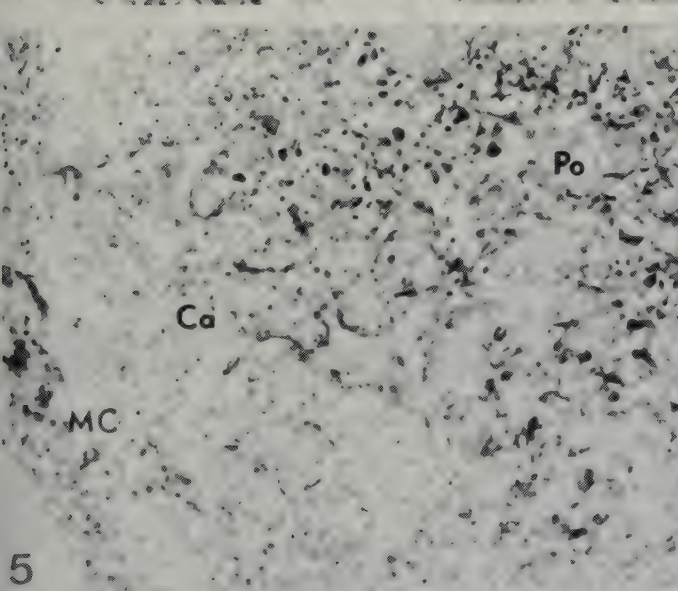
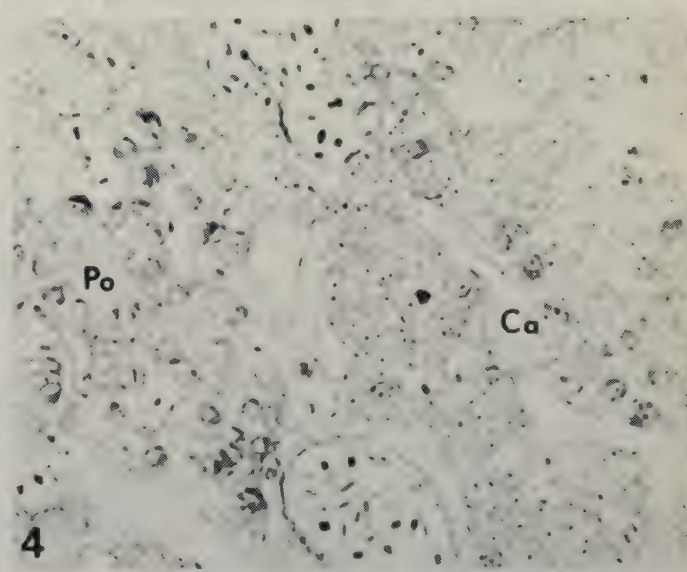
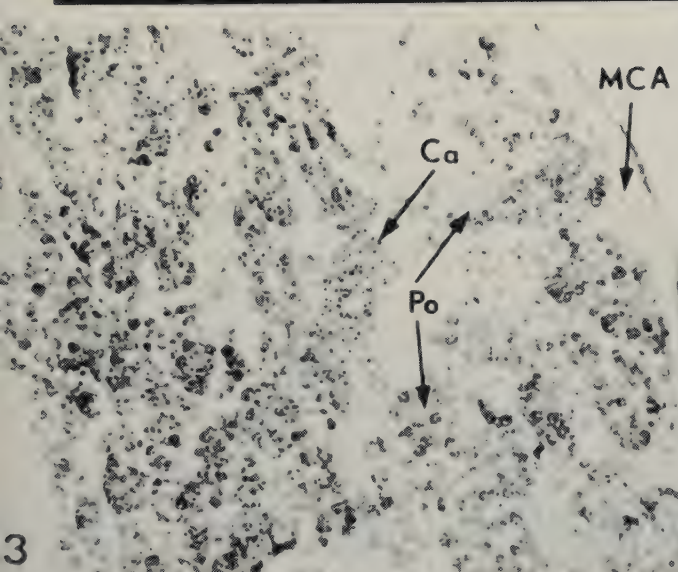
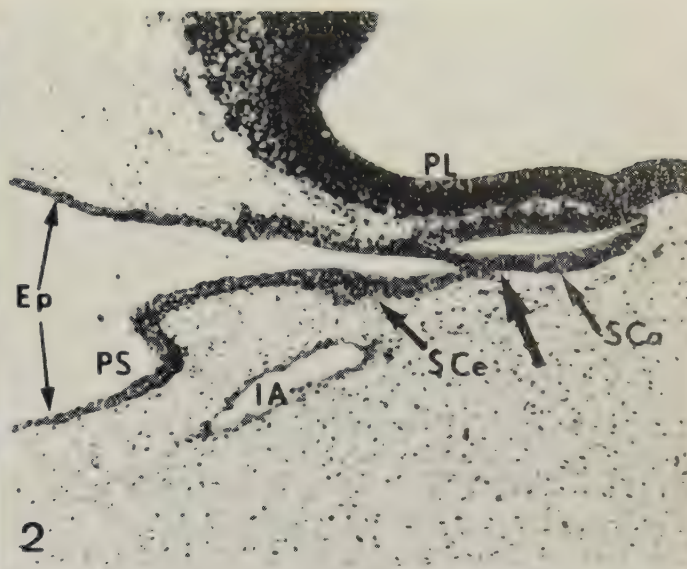
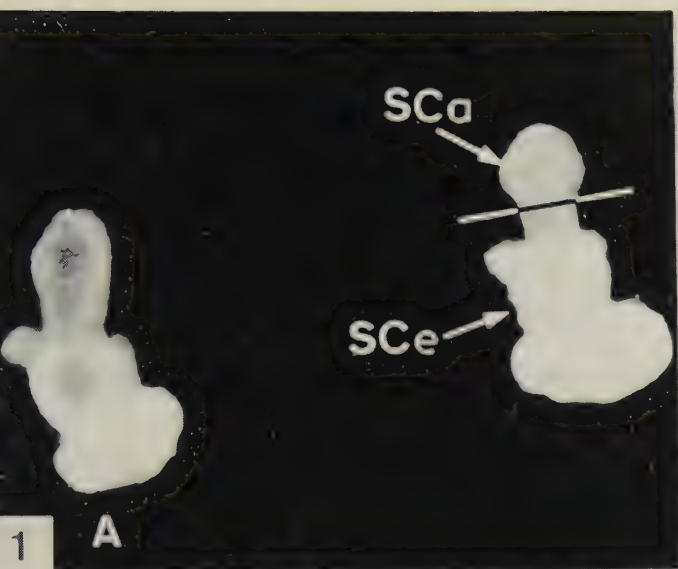
Quand les segments caudaux de la poche de Rathke de poulet ont évolué en greffe coelomique, les greffons étudiés montrent que les cellules

PLANCHE XXVI

(suite)

- Fig. 3 - Tissu adénohypophysaire formé en greffe chorio-allantoïdienne à partir d'un explant (a) comportant un lobe céphalique de poche de Rathke de caille et un lobe caudal de poche de Rathke de poulet. Cette coupe a été traitée par l'APS associé au bleu alcian. Des cellules APS et bleu alcian positives se sont différenciées dans les 2 tissus qui ont proliféré côte à côte sans se mêler. G x 240.
- Fig. 4 - Tissu adénohypophysaire formé en greffe chorio-allantoïdienne à partir d'un explant (b) constitué par un segment céphalique de poche de Rathke de poulet et par un segment caudal de poche de Rathke de caille. Des cellules APS positives se sont différenciées à partir du segment caudal de la poche de Rathke de caille. APS. G x 500.
- Fig. 5 - Tissu adénohypophysaire formé en greffe coelomique par un explant (b') (association d'un segment céphalique de poche de Rathke de poulet à un segment caudal de poche de Rathke de caille en présence de mésenchyme céphalique hétérologue). Des cellules APS positives se sont différenciées dans le tissu de poulet elles sont présentes mais rares dans le tissu de caille. APS et orange G. G x 300.
- Fig. 6 - Tissu adénohypophysaire formé par un explant (a') (association d'un segment céphalique de poche de Rathke de caille à un segment caudal de poche de Rathke de poulet en présence de mésenchyme céphalique hétérologue). Le tissu de poulet montre des cellules chromophobes, des cellules cyanophiles sont apparentes dans le tissu de caille (flèches).Tétrachrome. G x 700.

Ca : tissu adénohypophysaire de caille reconnaissable grâce au volumineux nucléole caractéristique du noyau de cette espèce ; MC : mésenchyme céphalique ; MCA : mésenchyme chorio-allantoïdien ; Po : tissu adénohypophysaire de poulet.



cyanophiles sont absentes dans 6 cas (Planche XXVI, fig. 6) ; elles sont présentes mais rares dans 3 greffons.

En ce qui concerne le tissu de caille, les zones correspondant au lobe caudal montrent des cellules APS positives nombreuses quand les greffons (b) ont évolué dans la chorio-allantoïde, ces cellules sont rares ou absentes dans 2 greffons seulement sur les 13 qui ont été étudiés. En greffe coelomique et en présence de mésenchyme céphalique [greffons (b')] la différenciation des cellules APS positives est moins bonne ; ces cellules sont rares ou absentes dans 6 greffons sur 8 (Planche XXVI, fig. 5).

La coloration par le tétrachrome donne, en ce qui concerne les cellules acidophiles, des résultats comparables à ceux que nous avons obtenus en greffant l'ébauche entière dans la chorio-allantoïde ou en la plaçant en greffe coelomique en présence d'un mésenchyme axial. Dans le cas du tissu de caille et du tissu de poulet formés dans certains greffons, les cellules acidophiles caudales se sont colorées par l'orange G ; compte-tenu de la durée de la greffe et de l'âge des ébauches, ce tissu correspond à l'adénohypophyse d'embryons en fin d'incubation chez le Poulet ; il en est de même pour le tissu de caille dont l'âge peut même excéder la durée de l'incubation, comme nous l'avons précédemment indiqué.

2.) Evolution des explants comportant plusieurs segments cépha-

liques ou plusieurs segments caudaux.

Des explants comportant plusieurs segments caudaux (c) ou plusieurs segments céphaliques (d) ont été constitués uniquement à partir d'ébauches adénohypophysaires de poulet. Les résultats obtenus confirment ceux fournis par l'étude des associations interspécifiques.

12 greffons comportant uniquement des segments caudaux ont pu être examinés : 8 présentaient des cellules APS positives nombreuses, 2 en montraient de très rares et 2 en étaient complètement dépourvus. En ce qui concerne les greffons (d) comportant uniquement des segments céphaliques, les

cellules APS y sont nombreuses et bien différenciées.

Dans les 2 types de greffons, les différentes parties sont généralement soudées ; toutefois, dans la zone périphérique, on peut voir une soudure incomplète ou des travées de mésenchyme séparer les "lobes", comme cela est le cas dans les associations interspécifiques. Le volume du tissu caudal est souvent inférieur à celui du tissu céphalique. Il convient toutefois de remarquer que la prolifération du tissu caudal est tout de même très importante car lorsque les 2 segments sont isolés, le segment caudal est, par suite du niveau de la section pratiquée, très réduit par rapport au segment céphalique.

Conclusion.

L'étude de l'évolution en greffe chorio-allantoïdienne ou en greffe coelomique, d'explants constitués soit par des associations interspécifiques comportant un segment céphalique et un segment caudal, soit par des associations de segments caudaux seuls ou de segments céphaliques seuls, permet de conclure que les conditions de la greffe chorio-allantoïdienne favorisent la différenciation de cellules cyanophiles au niveau du lobe caudal.

L'évolution des greffons constitués par des associations interspécifiques montre que les tissus de caille et de poulet prolifèrent côte à côte sans se mêler ; la différenciation de cellules APS positives dans les greffons constitués par des lobes caudaux de poulet confirme que c'est bien à partir de cellules du segment caudal que ces cellules se forment en greffe chorio-allantoïdienne.

E. - LIMITES DE L'INDEPENDANCE DE LA DIFFERENCIATION DE L'ADENO-
=====

HYPOPHYSE VIS A VIS DE L'HYPOTHALAMUS.
=====

L'ébauche épithéliale de l'adénohypophyse isolée après le stade de l'induction peut évoluer indépendamment de l'hypothalamus, la vascularisation étant un facteur essentiel de sa différenciation. Toutefois plusieurs questions se posent en ce qui concerne cette différenciation.

La première question est de savoir si les catégories cellulaires peuvent poursuivre leur évolution non seulement dans les conditions de déconnexion hypothalamique imposées au greffon mais également en l'absence complète d'hypothalamus. On peut en effet se demander si l'hypothalamus n'exerce pas à distance par l'intermédiaire de la circulation une influence sur le tissu adénohypophysaire, action comparable à celle que l'hypothalamus exerce sur l'adénohypophyse des animaux adultes par l'intermédiaire du système porte. Dans le cas du tissu adénohypophysaire embryonnaire formé en greffe, on peut envisager l'existence d'une sensibilité particulière à l'égard de facteurs hypothalamiques véhiculés par le sang. Cette possibilité d'intervention de facteurs hypothalamiques dans la différenciation de tissu adénohypophysaire en greffe ectopique, a été évoquée dans le cas du fœtus humain par PASTEELS (1963). Il convenait donc de s'assurer que la poche de Rathke pouvait se différencier non seulement en dehors de tout contact avec l'hypothalamus mais également en l'absence d'hypothalamus, condition réalisée par des embryons porte-greffe décapités.

La deuxième question que l'on peut se poser est liée à la première : la différenciation cytologique du tissu adénohypophysaire, obtenue en dehors de tout contact avec l'hypothalamus, s'accompagne-t-elle d'une différenciation fonctionnelle et dans cette hypothèse, l'activité fonctionnelle persiste-t-elle lorsque le greffon évolue en dehors de tout contrôle hypothalamique chez des embryons décapités ? Rappelons que, dans le cas d'Oiseaux adultes hypophysectomisés et porteurs d'une adénohypophyse greffée, BAYLE et coll. (1967) et BAYLE (1968) considèrent l'éventualité d'une action de facteurs hypothalamiques qui

s'exercerait sur le greffon hypophysaire ectopique par l'intermédiaire de la circulation générale.

La troisième question qui se pose concernant la limite de la différenciation cytologique obtenue, est de savoir quel pourrait être le devenir des catégories cellulaires de greffons qui, par suite de greffes successives, atteindraient un âge nettement plus important que la durée de l'incubation. Nous nous sommes également posé la même question en ce qui concerne les types cellulaires de l'adénohypophyse prélevée à la fin de l'incubation.

I. - Evolution de l'ébauche adénohypophysaire greffée chez des embryons de poulet privés d'hypothalamus.

Les poches de Rathke ont été isolées à des stades compris entre 3 jours 1/2 et 5 jours d'incubation ; elles ont été ensuite greffées soit directement sur la membrane chorio-allantoïdienne (FERRAND, 1970 a), soit placées en greffe coelomique après avoir été associées in vitro à du mésenchyme céphalique hétérologue. La durée de la greffe a varié de 13 à 16 jours.

Les embryons porte-greffe ont été privés d'hypothalamus et d'hypophyse par décapitation (Planche XXVII, fig. 1).

21 greffons ayant évolué en greffe coelomique ont été étudiés, 17 présentaient du tissu adénohypophysaire.

31 greffons différenciés en greffe chorio-allantoïdienne ont été examinés, 25 ont montré du tissu adénohypophysaire.

Le tissu adénohypophysaire formé dans chaque cas ne diffère pas de celui différencié dans les mêmes conditions chez des embryons porte-greffe ayant conservé l'hypothalamus. Aucune différence n'a été relevée tant en ce qui concerne la structure du tissu, le nombre et la répartition des types cellulaires qu'en ce qui concerne la chronologie de la différenciation des cellules cyanophiles et "acidophiles".

Conclusion.

La différenciation de tissu adénohypophysaire à partir de la poche de Rathke placée en position ectopique est indépendante de tout contrôle hypothalamique.

II. - Différenciation fonctionnelle du tissu adénohypophysaire formé en greffe chorio-allantoïdienne et en greffe coelomique.

L'étude de la différenciation de la poche de Rathke greffée dans la chorio-allantoïde d'embryons décapités, nous a permis de préciser si l'autonomie de la différenciation cytologique ainsi obtenue s'accompagnait d'une différenciation fonctionnelle également indépendante de l'hypothalamus.

Le taux de survie et le poids corporel des embryons décapités et greffés comparés à ceux des embryons décapités et des embryons témoins, nous ont fourni une première indication sur le rôle éventuel du tissu adénohypophysaire développé dans la chorio-allantoïde. Nous avons par ailleurs étudié la thyroïde et la surrénale des embryons appartenant à chaque série expérimentale ; les fonctions thyroïdienne et corticotrope manifestent en effet, chez les Oiseaux adultes, une certaine indépendance vis à vis de la commande hypothalamique (BOISSIN, 1967 ; BAYLE, 1968).

Nous avons également effectué in vitro l'étude de l'activité thyroïdienne de tissu adénohypophysaire différencié en greffe coelomique, chez des embryons non décapités.

L'activité fonctionnelle du tissu adénohypophysaire a donc été jugée d'après l'influence qu'il exerce soit in vivo sur la survie, le poids corporel, la thyroïde et la surrénale d'embryons décapités soit in vitro sur des ébauches de glandes thyroïdes.

1.) Influence exercée par le tissu adénohypophysaire, différencié en greffe chorio-allantoïdienne, sur la survie et le poids corporel des embryons décapités.

Au cours d'expériences préliminaires nous avons pu vérifier que la décapitation n'entraînait pas plus de décès que n'importe quelle autre opération, celle consistant par exemple à enlever un oeil. Le pourcentage de décès des embryons décapités diffère peu de celui que l'on observe après une simple ouverture de la coquille quand elle est pratiquée à des stades précoces, avant 48 heures

d'incubation. C'est là une observation bien connue depuis les travaux de WOLFF (1936).

Comme nous l'avons indiqué précédemment, l'albumine de tous les oeufs a été prélevée à des stades compris entre 11 et 15 somites. Un certain nombre d'embryons ont été décapités et les oeufs ont été replacés en incubation dans la même couveuse.

Le 6e ou le 7e jour de l'incubation les embryons survivants ont été divisés en 2 lots : les uns ont reçu en greffe chorio-allantoïdienne 2 ou 3 poches de Rathke prélevées chez des embryons âgés de 3 à 5 jours d'incubation, les autres ont constitué des contrôles.

Les séries expérimentales ont été regroupées en fonction de la durée de l'incubation qui a été de 17 et 19 jours (Tableau VII). Des embryons ont également été prélevés après 18 jours d'incubation, leur nombre étant peu important ils ne figurent pas dans le tableau VII. Il convient par ailleurs de remarquer que, parmi les embryons décapités et greffés, certains ont survécu jusqu'à 23 et même 25 jours.

Le fait que les greffes chorio-allantoïdiennes ont été effectuées assez précocement (6 ou 7 jours) par rapport à celles de BETZ (10 jours) et que la mise en place des annexes embryonnaires a été plus ou moins perturbée à la suite de la décapitation a fait que la totalité des greffons n'a pas toujours été retrouvée. Toutefois au moins un greffon a été retrouvé lors du prélèvement de chaque embryon décapité et greffé.

a. - Séries expérimentales comportant une durée d'incubation de 17 jours.

Les résultats figurant dans le tableau VII montrent que sur les 576 embryons décapités, 352 ont survécu le 6e ou le 7e jour de l'incubation. Sur les 78 embryons qui ont reçu en greffe 2 ou 3 poches de Rathke, 54 étaient vivants et ont été prélevés le 17e jour de l'incubation. 50 embryons hypophysectomisés non greffés ont survécu le 17e jour de l'incubation sur les 274 que comportaient ces séries expérimentales le 6e jour de l'incubation. Le pourcentage des embryons survivants par rapport aux embryons vivants le 6e jour de l'incubation, au moment de la greffe, est donc respectivement de 68 % et de 18 %.

Durée de l'incubation	Embryons décapités				Embryons témoins	
	Nombre	Nombre d'embryons survivants à 6 jours	Nombre d'embryons survivants à 17 ou 19 jours	Poids corporel*	Nombre	Poids corporel*
17 jours	576	274 contrôles	50	$9,3 \pm 0,2$	61	$15,2 \pm 1,4$
		352 78 greffés		$11,8 \pm 0,5$		
19 jours	565	261 contrôles	13	$10,7 \pm 0,4$	26	$18,6 \pm 1,8$
		344 83 greffés		$13,6 \pm 0,9$		

* Moyennes $\pm$ intervalles de confiance au niveau de probabilité $p = 0,05$.

Tableau VII.

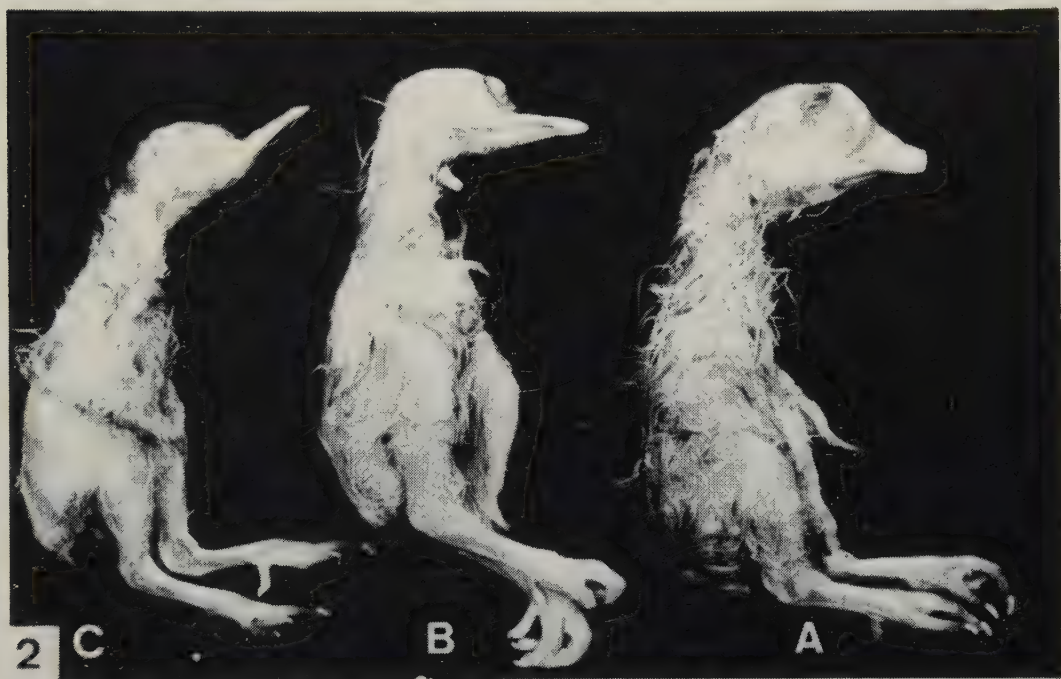
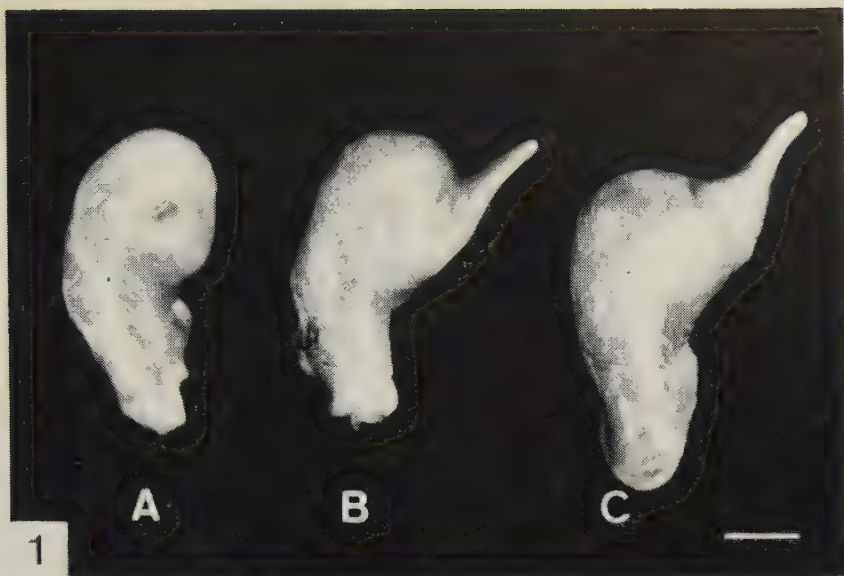
Influence exercée par le tissu adénohypophysaire différencié en greffe chorio-allantoïdienne sur la survie et le poids corporel des embryons décapités.

PLANCHE XXVII

(Embryon de poulet)

- Fig. 1 - Aspect de la tête d'embryons décapités à des stades compris entre 11 et 15 somites et âgés de 17 jours. Selon le niveau de la section, le bec inférieur peut faire défaut (A) être présent ~~et~~ plus ou moins tronqué (B) ou prendre une forme tubulaire (C). De tels embryons sont dépourvus d'adénohypophyse et d'hypothalamus. (Le trait blanc représente 0,5 cm)
- Fig. 2 - Embryons âgés de 19 jours. A : embryon témoins (Poids : 18,3 g) ; B : embryon décapité et greffé (Poids : 14,2 g) ; C : embryon décapité (Poids : 11 g).
- Fig. 3 - Embryons âgés de 20 jours. A : embryon témoin (Poids : 21 g) ; B et C : embryons décapités et greffés (Poids : 19,3 g et 16,8 g). L'embryon B, malgré un poids corporel élevé, montre des troubles dans la croissance du duvet.

Le trait blanc sur la figure 3 représente 1 cm. Les figures 2 et 3 sont au même grossissement.



En ce qui concerne le poids corporel moyen, il est dans le cas des embryons témoins de 15,2 g, celui des embryons décapités est de 9,3 g et celui des embryons décapités et greffés est de 11,8 g (Tableau VII, Planche XXVII).

b. - Embryons âgés de 19 jours.

Dans le cas des séries expérimentales comportant une incubation de 19 jours, 565 embryons ont été décapités, 344 ont survécu le 6e jour de l'incubation. 83 embryons ont alors reçu en greffe chorio-allantoïdienne 2 ou 3 poches de Rathke, 49 ont survécu jusqu'au 19e jour de l'incubation, le pourcentage de survie est donc de 59 %. Sur les 261 embryons non greffés, 13 seulement étaient encore vivants le 19e jour, le pourcentage de survie dans ce cas n'atteint pas 5 %.

En ce qui concerne le poids corporel moyen, il se situe dans le cas des embryons décapités et greffés à un niveau intermédiaire (13,6 g) entre celui des embryons témoins (18,6 g) et celui des embryons décapités (10,7 g) (Tableau VII, Planche XXVII, fig. 2 et 3).

Ces résultats montrent que le tissu adénohypophysaire différencié en greffe chorio-allantoïdienne, exerce une action physiologique qui permet une survie plus importante des embryons et un rétablissement partiel du poids corporel. Nous avons pu constater par ailleurs que la rétention d'eau, les troubles affectant la peau et la croissance du duvet ainsi que la résorption du vitellus étaient généralement corrigés par la greffe, toutefois ces résultats nous sont apparus moins constants que l'augmentation du poids corporel ; nous avons notamment observé des troubles dans la croissance du duvet chez des embryons greffés bien que leur poids corporel soit relativement élevé (Planche XXVII, fig. 3). Inversement la décapitation n'a pas toujours été suivie par une perturbation de la croissance du duvet.

Les résultats obtenus aussi bien après 17 jours qu'après 19 jours d'incubation montrent que le taux de survie des embryons qui n'est respectivement que de 18 % et de 5 % chez les embryons décapités passe à 68 % et à 59 % quand les embryons reçoivent en greffe 2 ou 3 poches de Rathke le 6e jour de l'incubation. Ce résultat est en accord avec ceux de BETZ (1967) et de BRASCH

et BETZ (1971) bien qu'ils ne soient pas exactement comparables car ces auteurs effectuent leurs greffes le 10e jour de l'incubation seulement et les embryons ne sont prélevés que le 20e jour de l'incubation. BETZ (1967) indique que 60% des embryons hypophysectomisés et greffés survivent, ce pourcentage n'est que de 6% dans le cas des embryons hypophysectomisés. Ces chiffres ne diffèrent pas sensiblement des nôtres. La décapitation est toujours suivie d'un nombre important de décès. FUGO (1940) décapite 691 embryons et obtient 162 survivants le 12e jour de l'incubation ; AKRAM et WENIGER (1969) et ADJOVI (1970) signalent également une importante mortalité.

En ce qui concerne le poids corporel des différentes catégories d'embryons BETZ (1967) indique que le poids des embryons décapités et décapités porteurs d'un ou 2 greffons représente respectivement 45% et 66% (60% dans le cas des embryons porteurs de 2 greffons) du poids corporel des embryons témoins. Les chiffres que nous obtenons sont respectivement de 61% et de 77% pour les embryons âgés de 17 jours et de 57% et de 73% pour les embryons âgés de 19 jours. Ces résultats diffèrent légèrement de ceux de BETZ, toutefois il faut préciser que BETZ a pesé les embryons après section du cou et que, dans ses expériences, l'âge des embryons est de 20 jours, or si l'accroissement du poids corporel entre 17 et 19 jours est de 1,4 g chez les embryons décapités il est de 3,4 g chez les témoins. Cet écart aurait été encore plus important à 20 jours ce qui nous amène à considérer que les différences relevées dans les résultats sont tout à fait explicables par les conditions différentes de l'expérience.

Le nombre de greffons n'intervient ni dans le taux de survie ni dans la croissance des embryons. Certains embryons porteurs de 3 greffons avaient en effet un poids inférieur au poids moyen alors que des embryons chez lesquels un seul greffon a été retrouvé ont atteint des poids supérieurs au poids moyen. Ce résultat est également en accord avec ceux de BETZ (1967) et de BRASCH et BETZ (1971).

Conclusion

Le tissu adénohypophysaire différencié en greffe chorio-allantoïdienne chez des embryons décapités accroît le pourcentage de survie et stimule le développement de ces embryons.

2.) Activité thyroïdienne manifestée par le tissu adénohypophy-

saire différencié en greffe.

L'activité thyroïdienne du tissu adénohypophysaire différencié en greffe coelomique a été mise en évidence in vitro (G. LE DOUARIN et FERRAND, 1968) l'activité thyroïdienne manifestée par le tissu adénohypophysaire formé en greffe chorio-allantoïdienne a été étudiée in vivo (FERRAND, 1971 c).

a. - Etude in vitro.

L'existence, dès un stade précoce, d'une activité thyroïdienne dans l'adénohypophyse embryonnaire a été démontrée par TIXIER-VIDAL (1956, 1958) par une technique consistant à cultiver in vitro des ébauches thyroïdiennes prélevées à des stades variant de 4 à 7 jours au contact d'hypophyses provenant d'embryons âgés de 5 à 8 jours. Les expériences de culture d'ébauches de thyroïde effectuées par différents auteurs (CARPENTER, 1942; GAILLARD, 1953; WOLFF et coll., 1960) ont montré que les ébauches pouvaient s'autodifférencier in vitro dans certaines conditions nutritionnelles. Par contre la technique utilisée par TIXIER-VIDAL a permis à cet auteur de constater que l'évolution in vitro de la thyroïde était limitée et que, dans ces conditions, il était possible de voir qu'elle pouvait être influencée par un contact avec l'hypophyse embryonnaire. C'est ainsi qu'une ébauche thyroïdienne, prélevée à 7 jours d'incubation alors qu'elle ne montre pas encore de colloïde, n'évolue pas ou très peu sur le milieu utilisé par TIXIER-VIDAL et elle est encore presque totalement dépourvue de colloïde après 48 heures de culture ; par contre l'ébauche contralatérale, cultivée au contact d'une hypophyse, est stimulée et montre de nombreuses gouttelettes de colloïde.

Dans nos expériences, nous avons utilisé les greffons obtenus en greffe coelomique après avoir associé in vitro l'ébauche épithéliale de l'adénohypophyse, prélevée au stade de 3 jours d'incubation, à du mésenchyme céphalique latéral. Les greffons ont été prélevés après 14 jours de greffe et placés au contact d'une ébauche de thyroïde provenant d'un embryon de 7 jours. Nous avons utilisé le même milieu de culture que TIXIER-VIDAL, il s'agit d'un milieu

anhormonal dérivé de celui de WOLFF et HAFFEN (1952 a) et dont nous avons donné la composition.

La durée de culture est de 2 jours. Pour chaque expérience d'association nous avons constitué un explant témoin en cultivant les ébauches thyroïdiennes contralatérales au contact d'un fragment de tissu cardiaque. La présence d'un tissu au contact de l'ébauche thyroïdienne stimule la différenciation de la thyroïde (WOLFF et coll. 1960) et à cet égard le tissu cardiaque constitue un des tissus les plus favorables à cette différenciation (TIXIER-VIDAL, 1957 a).

Les explants ont été fixés par le liquide de Bouin-Hollande sublimé et traités par l'APS suivi d'une coloration par l'hématoxyline.

Les thyroïdes témoins évoluent en culture, toutefois, le plus souvent, elles sont dépourvues de colloïde (Planche XXVIII, Fig. 2) comme cela est le cas chez l'embryon de poulet de 9 jours. Ce point est en accord avec les résultats de TIXIER-VIDAL (1958).

98 greffes coelomiques ont été effectuées. Après 14 jours de greffe nous avons pu prélever 55 greffons que nous avons associés in vitro à des thyroïdes de 7 jours. Après 2 jours de culture, 12 explants étaient nécrosés. Nous avons donc, en définitive, examiné 43 associations et les témoins correspondants. Du tissu adénohypophysaire était présent dans 33 explants : dans 27 cas la thyroïde a été stimulée de façon plus ou moins intense, les gouttes de colloïdes sont souvent très nombreuses (Planche XXVIII, Fig. 1). Dans les 10 explants qui ne comportaient pas de tissu adénohypophysaire, la thyroïde ne montre pas de colloïde (Planche XXVIII, Fig. 3). Ils constituent donc des témoins qui confirment que la différenciation de la thyroïde au contact du tissu adénohypophysaire ne résulte pas d'un effet favorable des tissus d'origine mésenchymateuse du greffon, mais que cette différenciation est la conséquence d'une action thyréotrope.

b. - Etude in vivo.

- α) Tissu adénohypophysaire différencié à partir des
.....
2 segments de la poche de Rathke.
.....

La thyroïde des embryons décapités présente l'aspect caractéristique décrit par de nombreux auteurs. De petite taille, elle est constituée par un tissu

PLANCHE XXVIII

(Embryon de poulet)

Fig. 1 à 3 - Etude in vitro de l'activité thyroïdienne manifestée par le tissu adénohypophysaire formé par la poche de Rathke placée en greffe coelomique chez des embryons non décapités. La figure 1 montre une ébauche thyroïdienne, prélevée au stade de 7 jours d'incubation et cultivée pendant 48 heures au contact d'un greffon comportant du tissu adénohypophysaire, elle a été stimulée et présente des gouttelettes de colloïde. L'ébauche thyroïdienne contra-latérale, cultivée au contact de tissu cardiaque, n'a pas été stimulée (Fig. 2). La figure 3 représente une ébauche thyroïdienne cultivée au contact d'un greffon dépourvu de tissu adénohypophysaire ; l'ébauche ne présente pas de colloïde. APS et hématoxyline. Fig. 1, 2 et 3, G x 350.

Fig. 4 et 5 - Aspect de la thyroïde d'embryons décapités âgés de 17 jours. La figure 4 montre une thyroïde qui a conservé un aspect parenchymateux, les follicules sont de petite taille, la colloïde est peu abondante. La figure 5 montre une thyroïde dont les follicules sont de plus grande taille mais dépourvus de colloïde. Les sinusoides sanguins sont nombreux. APS. G x 330.

Fig. 6 - Aspect de la thyroïde d'un embryon témoin âgé de 17 jours. APS. G x 330.

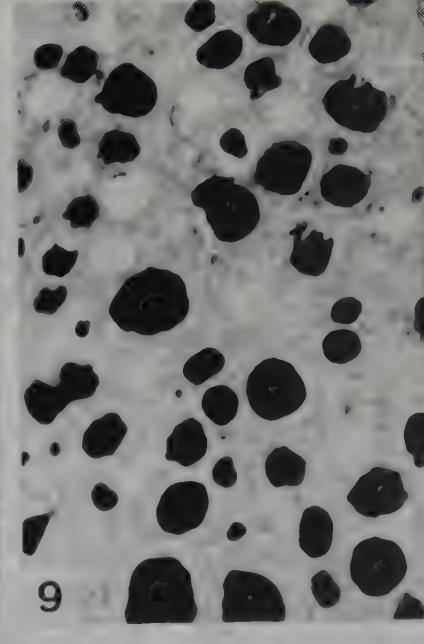
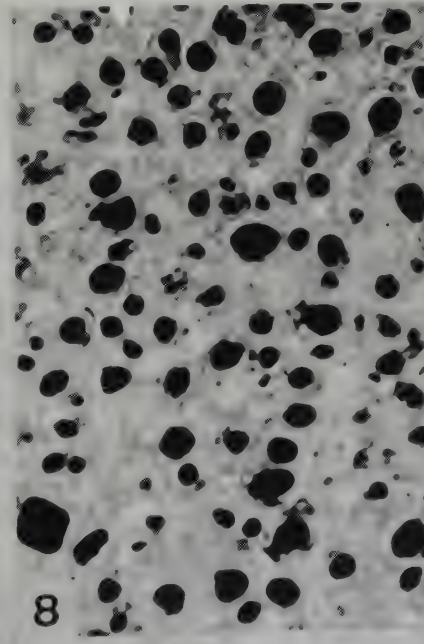
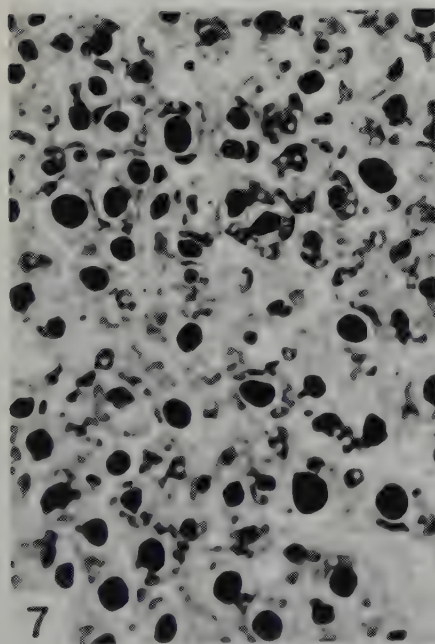
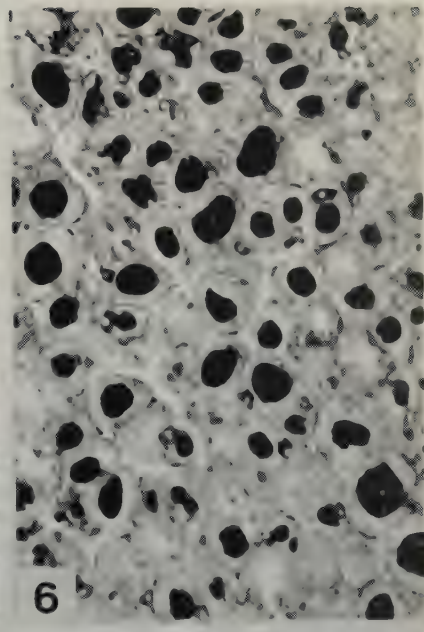
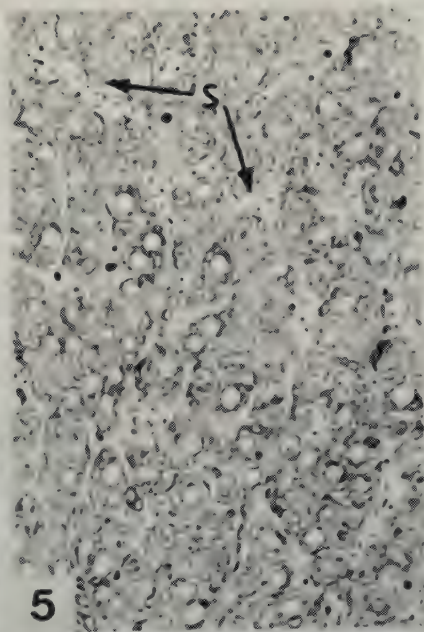
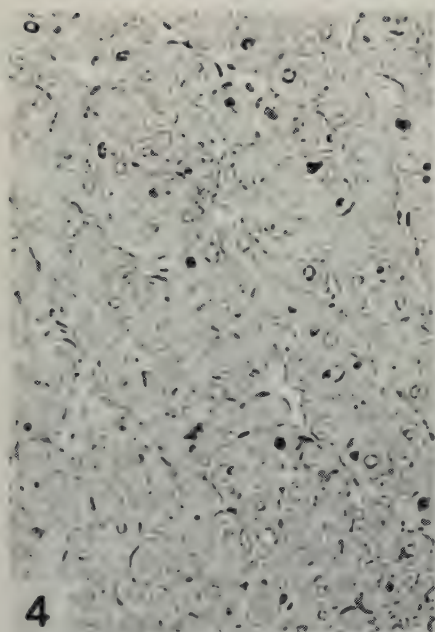
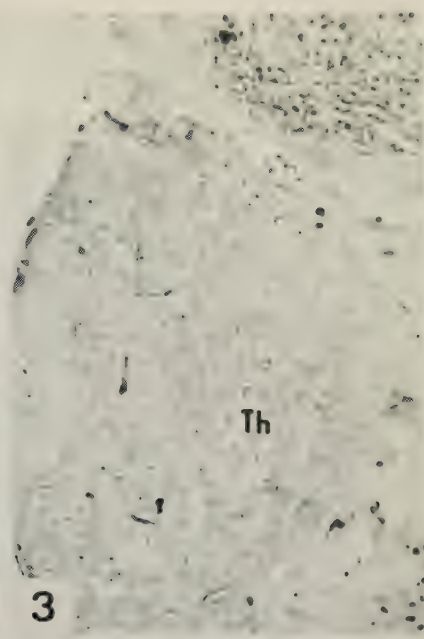
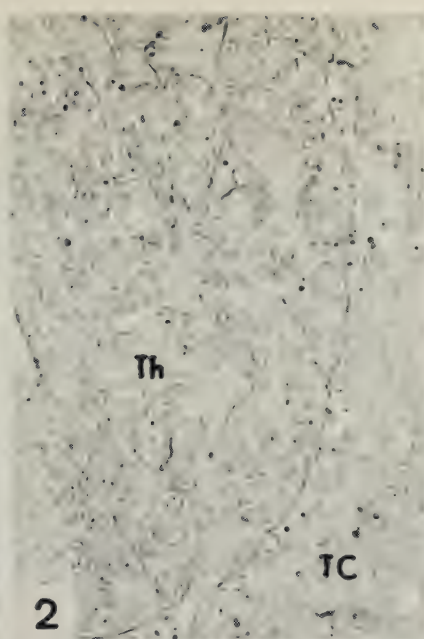
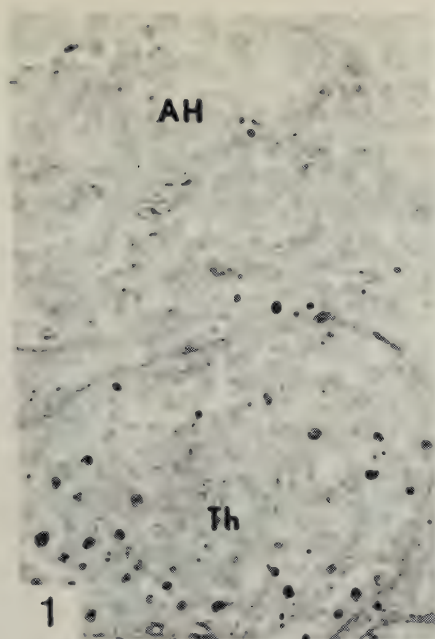
Fig. 7, 8 et 9 - Aspect de la thyroïde d'embryons décapités et greffés. APS. G x 330.

- Fig. 7 - Thyroïde d'un embryon décapité âgé de 17 jours ayant reçu en greffe chorio-allantoïdienne 2 poches de Rathke. La différenciation de la thyroïde a été stimulée ; le diamètre des follicules demeure toutefois inférieur à celui relevé chez les embryons témoins de même âge (Fig. 6 et Planche XXIX).

- Fig. 8 - Thyroïde d'un embryon décapité âgé de 19 jours et porteur de 2 greffons constitués par l'association de 3 segments caudaux de poche de Rathke. La formation de colloïde a été stimulée, le diamètre des follicules est inférieur à celui observé chez les témoins (Planche XXX) et chez les embryons porteurs de greffons formés par l'association de segments céphaliques (Fig. 9).

- Fig. 9 - Thyroïde d'un embryon décapité âgé de 19 jours et porteur de 2 greffons constitués par 3 segments céphaliques de poche de Rathke. Le développement des follicules ne diffère pas sensiblement de celui observé chez les embryons témoins et chez les embryons décapités et greffés de poches de Rathke entières (Planche XXX).

AH : tissu adénohypophysaire ; S : sinusoides sanguins ; TC : tissu cardiaque.
Th : ébauche thyroïdienne.



d'aspect parenchymateux où la vascularisation est abondante. Les gouttelettes de colloïde sont souvent absentes. Quand elles sont présentes, elles sont rares et de petite taille, l'organisation en follicules n'est pas toujours apparente (Planche XXVIII, Fig. 4 et 5).

La greffe chorio-allantoïdienne de 2 ou 3 ébauches adénohypophysaires stimule, de façon importante, la thyroïde des embryons décapités (Planche XXVIII, Fig. 7). 103 thyroïdes d'embryons décapités et greffés, âgés de 17 ou de 19 jours, ont été examinées et dans tous les cas, sauf 7, le développement des follicules et la quantité de colloïde sont très nettement plus importants que chez les embryons décapités. Afin de pouvoir comparer la thyroïde des embryons témoins (Planche XXVIII, Fig. 6), à la thyroïde des embryons décapités et greffés (Planche XXVIII, Fig. 7), nous avons mesuré le diamètre interne des follicules. Dans chaque cas, nous avons effectué 600 mesures. 6 coupes de thyroïdes d'embryons différents ont été utilisées. 100 mesures ont été effectuées selon un diamètre. Les histogrammes (Planche XXIX), établis dans le cas des embryons témoins âgés de 17 jours et dans le cas d'embryons décapités et greffés chez lesquels 2 greffons ont été retrouvés, montrent que le mode est légèrement plus élevé dans le cas des embryons témoins; le nombre de follicules ayant des diamètres inférieurs à $5,2 \mu$ est deux fois plus important chez l'embryon décapité et greffé. Le nombre de follicules ayant un diamètre supérieur à 13μ est, par contre, plus élevé chez les embryons témoins (Planche XXIX, Fig. 1).

Dans le cas des embryons âgés de 19 jours, on constate, par rapport aux témoins de 17 jours, un déplacement du mode qui traduit une augmentation du diamètre des follicules. Les histogrammes obtenus dans le cas des embryons décapités porteurs d'un seul ou de deux greffons, ne diffèrent pas sensiblement de l'histogramme obtenu chez les témoins. Dans les 3 cas, le mode se situe entre $7,8$ et 13μ (Planche XXIX, Fig. 2).

La différenciation de tissu adénohypophysaire, en greffe chorio-allantoïdienne chez des embryons décapités, permet donc une différenciation sub-normale chez les embryons âgés de 17 jours et normale chez les embryons décapités de 19 jours. Cette différenciation, dans les limites de notre expérience, ne dépend pas du nombre de greffons. Ces résultats sont tout-à-fait comparables à

PLANCHE XXIX
(Embryon de poulet)

Histogrammes de fréquence des diamètres folliculaires thyroïdiens.

En abscisse : diamètre interne des follicules.

En ordonnée : nombre de cas exprimé en % du nombre total de mesures
(chaque histogramme a été établi à partir de 600 mesures).

Fig. 1 - Embryons de 17 jours.

- a. Embryons témoins.
- b. Embryons décapités et greffés de 2 poches de Rathke.

Les follicules sont plus développés que chez les embryons décapités non greffés et montrent de la colloïde (cf. Planche XXVIII). Toutefois leur diamètre interne demeure inférieur à celui observé dans le cas des embryons témoins.

Fig. 2 - Embryons âgés de 19 jours.

- a. Embryons témoins.
- b. Embryons décapités chez lesquels un seul greffon a été retrouvé.
- c. Embryons décapités porteurs de 2 greffons.

Dans les 3 cas le diamètre modal est compris entre 7,8 et 13 μ . La différenciation de la thyroïde des embryons décapités et greffés diffère peu, à ce stade, de celle des embryons témoins. Elle ne semble pas influencée par le nombre de greffons.

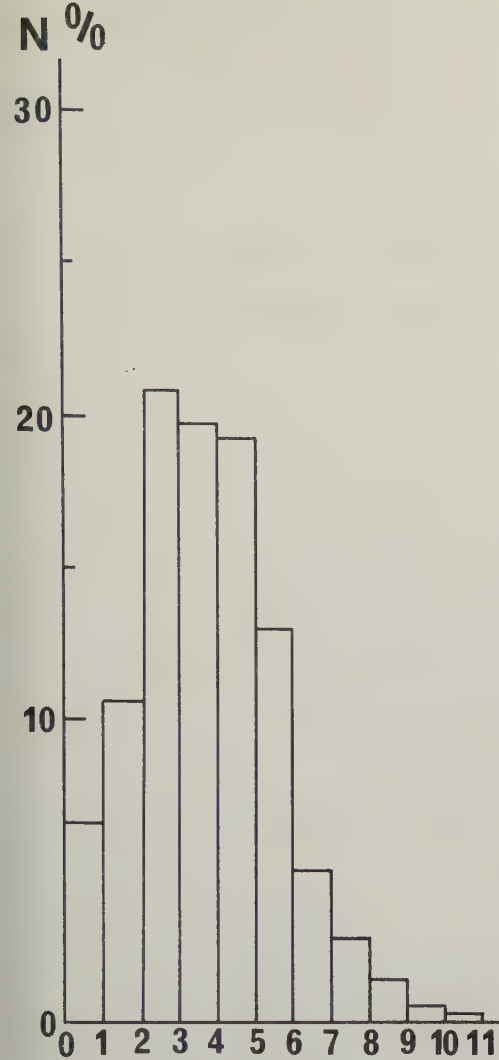


figure 1a

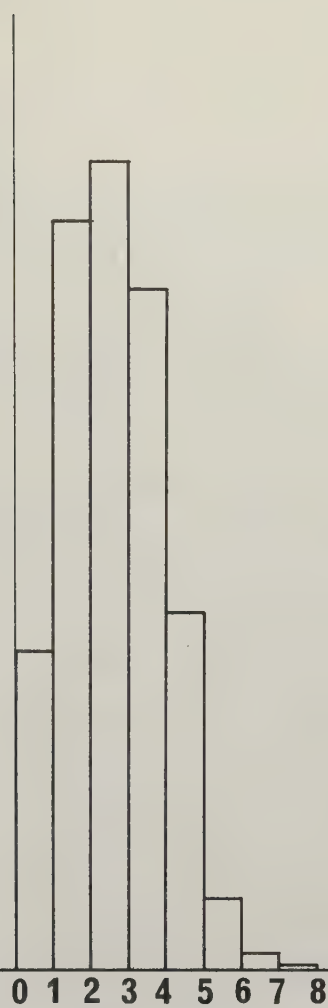


figure 1b

$\emptyset$
x 2,6 μ

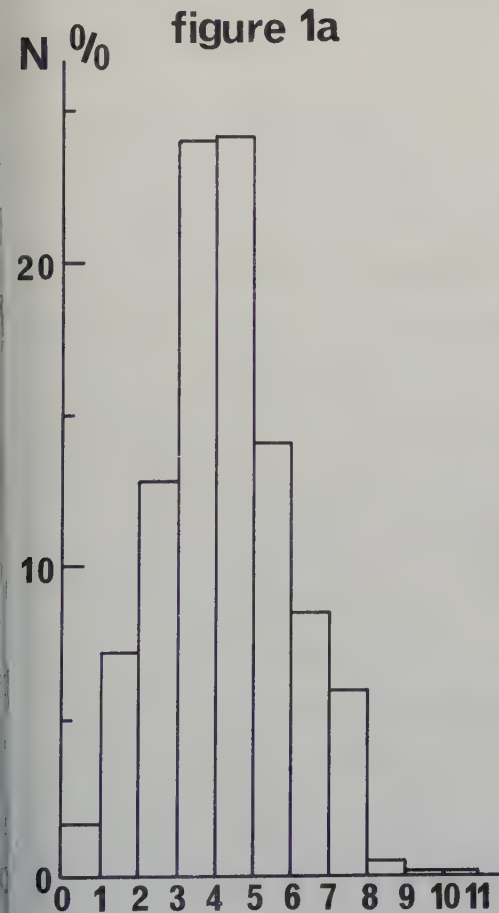


figure 2a

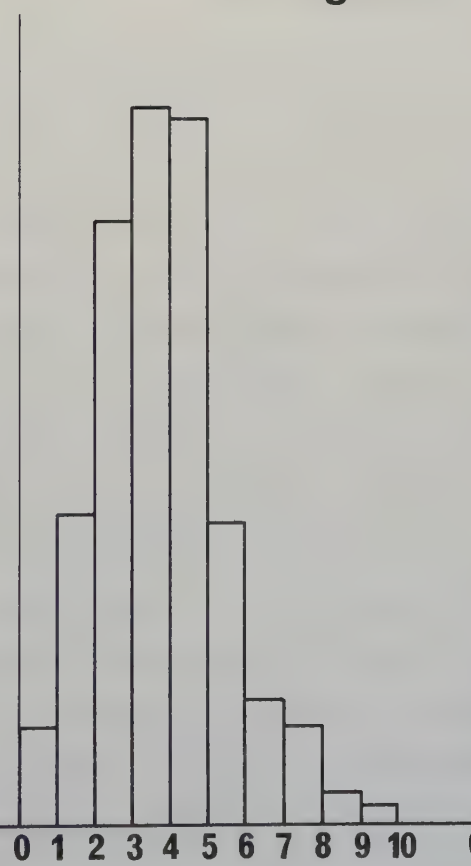


figure 2b

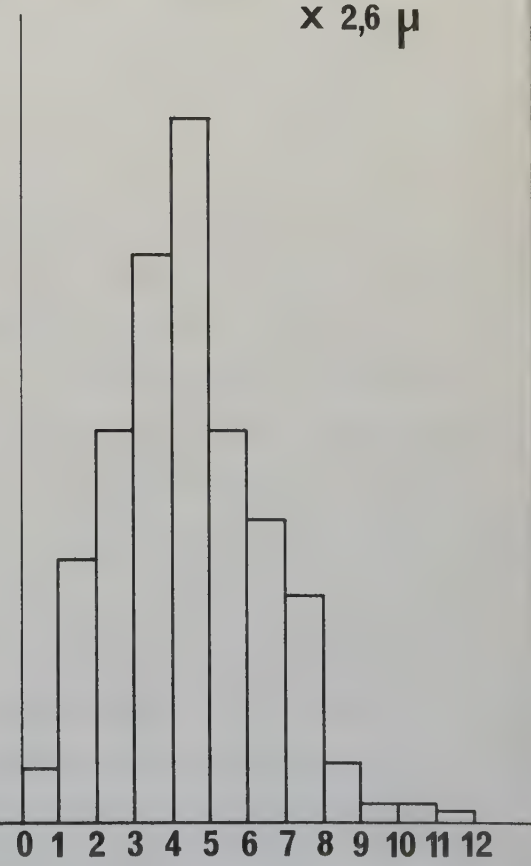


figure 2c

$\emptyset$
x 2,6 μ

ceux obtenus par BETZ (1967) en greffant dans la chorio-allantoïde d'embryons décapités des adénohypophyses prélevées chez des embryons de 10 jours.

β) Tissu adénohypophysaire différencié à partir de
.....
plusieurs segments caudaux de poches de Rathke.
.....

Nous avons précédemment rapporté (2ème partie, D, V) que plusieurs segments caudaux de poches de Rathke associés in vitro et placés en greffe chorio-allantoïdienne prolifèrent de façon importante et que le tissu ainsi formé montre des cellules APS positives nombreuses et bien différenciées.

21 embryons décapités ont reçu 3 greffons comprenant chacun 3 segments caudaux de poche de Rathke, 8 ont survécu le 19e jour de l'incubation. Le poids de ces embryons ($13,9 \text{ g}^{+2,4 \text{ g}} *$) est voisin de celui des embryons décapités et greffés de poches de Rathke entières ($13,6 \text{ g}^{+0,9 \text{ g}} *$). Il diffère significativement de celui des embryons décapités non greffés ($10,7 \text{ g}^{+0,4 \text{ g}} *$). Le taux de survie est de 38 %.

Une observation plus intéressante concerne la différenciation de la thyroïde des embryons décapités porte-greffe; en effet, dans 7 cas sur 8 la thyroïde a été stimulée. Toutefois l'histogramme de fréquences des diamètres internes des follicules thyroïdiens (Planche XXX) montre que le mode est moins élevé dans le cas des embryons ayant reçu 2 greffons formés à partir des seuls lobes caudaux que dans le cas des embryons témoins et que dans celui des embryons porteurs de 1 ou 2 greffons formés à partir des deux segments de la poche de Rathke. En effet, le mode se situe entre $2,6 \mu$ et $7,8 \mu$, alors que chez les embryons témoins et les embryons décapités et greffés il est situé entre $7,8 \mu$ et 13μ . La thyroïde montre toutefois une stimulation nette par rapport à celle des embryons décapités (Planche XXVIII, Fig. 8). Ce résultat n'est pas en accord avec ceux de BRASCH et BETZ (1971). Ces auteurs, en greffant dans la chorio-allantoïde d'embryons décapités des lobes caudaux d'adénohypophyse de poussins de 1 jour, n'observent aucune stimulation de la thyroïde de l'embryon hôte. L'activité thyroïdienne manifestée par ce type de greffon, dans nos expériences, est à rapprocher du fait que les conditions de la greffe chorio-allantoïdienne favorisent la différenciation des cellules APS positives.

* moyenne $\pm$ intervalle de confiance au niveau de probabilité $p = 0,05$.

PLANCHE XXX
(Embryon de poulet)

Histogrammes de fréquence des diamètres folliculaires thyroïdiens des
embryons âgés de 19 jours (suite).

Fig. 1 - Embryons témoins.

Fig. 2 - Embryons décapités porteurs de 2 greffons constitués par l'association de 3
segments caudaux de poche de Rathke. Bien que la formation de colloïde ait
été stimulée, le diamètre modal demeure inférieur à celui observé dans le
cas des embryons témoins.

Fig. 3 - Embryons décapités porteurs de 2 greffons constitués par l'association de
3 segments céphaliques de poche de Rathke. L'histogramme obtenu est tout
à fait comparable à celui qui a été établi dans le cas des embryons témoins.

N %

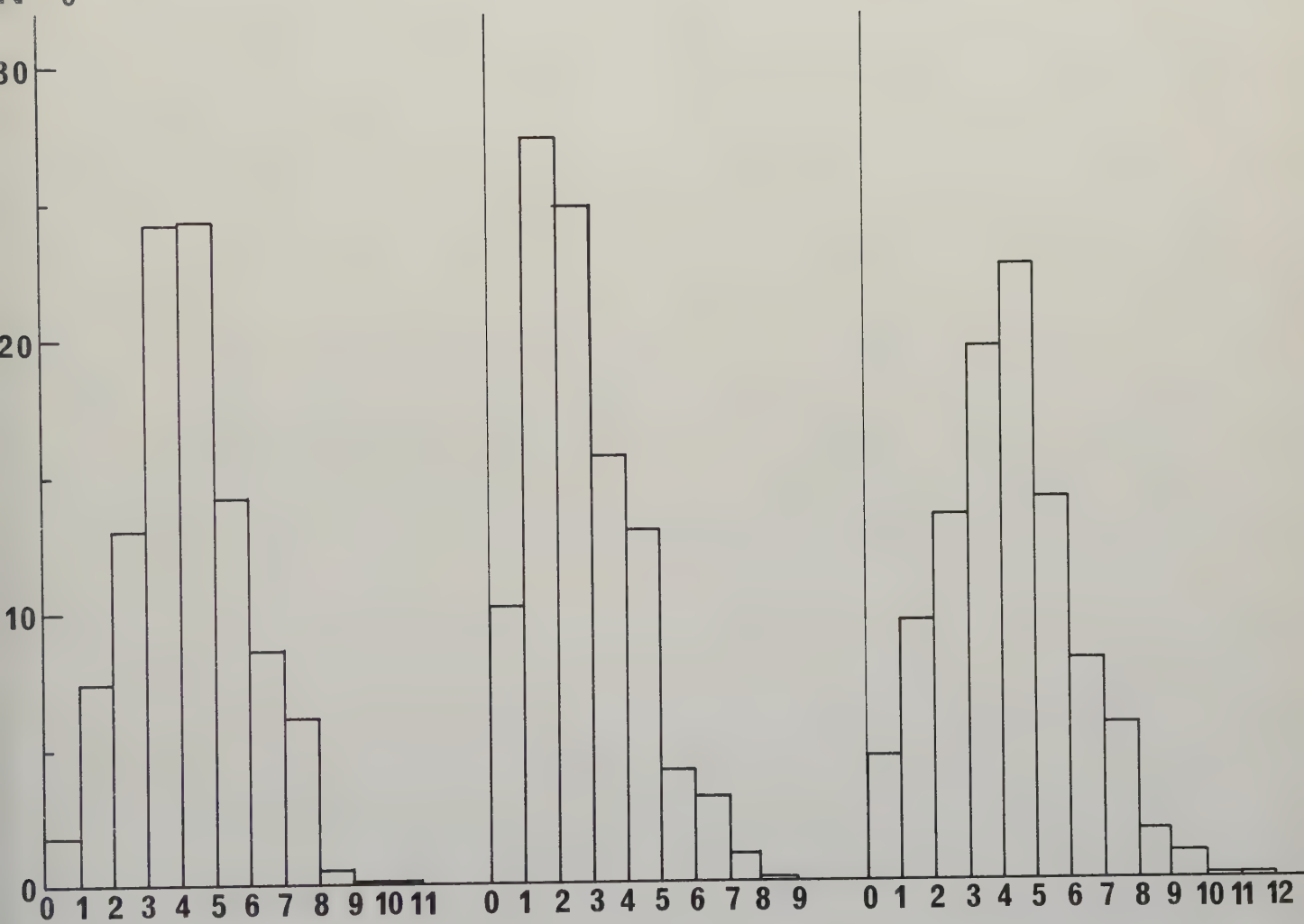


figure 1

figure 2

figure 3

Ø
x 2,6 μ

γ) Tissu adénohypophysaire différencié à partir de
.....
plusieurs segments céphaliques de poches de Rathke.
.....

28 embryons décapités ont reçu en greffe 2 ou 3 explants constitués par 3 segments céphaliques de poche de Rathke préalablement associés in vitro, 11 embryons ont pu être prélevés le 19^e jour de l'incubation. Le poids corporel de ces embryons ($14,2 \text{ g} \pm 2,2 \text{ g}$)*, diffère significativement de celui des embryons décapités de même âge ($10,7 \text{ g} \pm 0,4 \text{ g}$)* et il est supérieur, bien que non significativement à celui des embryons décapités et greffés de poches de Rathke entières ($13,6 \text{ g} \pm 0,9 \text{ g}$)*.

En ce qui concerne la thyroïde, une stimulation importante a été provoquée par le ou les greffons (Planche XXVIII, Fig. 9). Les mesures de diamètres de follicules effectuées sur la thyroïde d'embryons porteurs de 2 greffons, ont permis d'établir un histogramme qui montre que le mode se localise entre $7,8 \mu$ et 13μ , comme cela est le cas chez les embryons témoins et chez les embryons porteurs de greffons formés à partir des deux segments de la poche de Rathke. La taille maximum atteinte par les follicules ($31,2 \mu$) est également tout à fait comparable à la taille atteinte par les follicules thyroïdiens des embryons témoins.

Conclusion.

L'ébauche épithéliale de l'adénohypophyse, différenciée en greffe coelomique chez des embryons entiers, stimule la production de colloïde par les ébauches thyroïdiennes cultivées à son contact. Cette activité thyroïdienne se manifeste également in vivo quand l'ébauche adénohypophysaire évolue en greffe chorio-allantoïdienne chez des embryons préalablement privés d'hypophyse et d'hypothalamus par décapitation. Le tissu adénohypophysaire, formé en greffe à partir de plusieurs segments céphaliques ou de plusieurs segments caudaux, stimule la formation de colloïde. Toutefois, si le tissu formé à partir des segments céphaliques manifeste une activité thyroïdienne comparable à celle du tissu formé à partir des 2 segments de la poche de Rathke, il n'en est pas de même pour le tissu formé par les seuls lobes caudaux.

* moyenne $\pm$ intervalle de confiance au niveau de probabilité $p = 0,05$.

3.) Influence du tissu adénohypophysaire différencié en greffe

chorio-allantoïdienne sur la surrénale des embryons décapités.

Les glandes surrénales des embryons de chaque série expérimentale (témoins, décapités, décapités et greffés) ont été soit utilisées pour le dosage de l'acide ascorbique, soit pour la recherche des lipides par la technique du noir Soudan, soit enfin soumises à la réaction de HILLARP et HOKFELT (1955), afin d'étudier dans les différents cas le développement relatif du tissu cortical et du tissu chromaffine.

a. - Dosage de l'acide ascorbique.

Le dosage a été effectué selon la technique de ROE et KUETHER (1942), modifiée par SCHAFFERT et KINGSLEY (1955).

Trois dosages ont été effectués; afin que les conditions soient le plus homogènes possible, nous avons, à chaque fois, dosé simultanément l'acide ascorbique dans les surrénales d'embryons âgés de 17 jours et appartenant à chacune des séries expérimentales.

Les résultats montrent que la quantité moyenne d'acide ascorbique par paire de surrénales est, pour les embryons décapités de $3,7 \mu\text{g}$ ($3,5 - 3,6 - 4,1$), pour les embryons décapités et greffés de $4,6 \mu\text{g}$ ($4,2 - 4,8 - 4,9$), et pour les embryons témoins de $5,3 \mu\text{g}$ ($4,9 - 5,2 - 5,9$). La différence entre les quantités moyennes d'acide ascorbique par paire de surrénales n'est donc pas très importante. De plus, si on la rapporte au poids corporel moyen, on constate que le pourcentage d'acide ascorbique surrénalien est respectivement de $39 \times 10^{-6} \%$ pour les embryons décapités, de $38 \times 10^{-6} \%$ pour les embryons décapités et greffés et de $34 \times 10^{-6} \%$ pour les témoins. Ces chiffres montrent qu'au stade considéré (17 jours) la quantité d'acide ascorbique n'est affectée par la décapitation que dans la mesure où cette intervention abaisse le développement général de l'embryon et, par la suite, celui des glandes surrénales. Dans le cas des embryons décapités

et greffés, le tissu adénohypophysaire différencié en greffe chorio-allantoïdienne interviendrait au contraire en stimulant la croissance, plutôt qu'en agissant spécifiquement sur le taux d'acide ascorbique.

Les résultats obtenus à la suite de la décapitation ne sont donc pas en accord avec ceux de CASE (1952), toutefois ils ne sont pas entièrement contradictoires. En effet, l'examen d'une courbe fournie par cet auteur et qui montre en particulier la variation de l'acide ascorbique total en fonction de l'âge des embryons, amène à faire plusieurs observations. Tout d'abord le poids corporel des embryons décapités ou normaux que nous avons sacrifiés à 17 jours correspond à celui des embryons âgés de 16 jours à peine dans le cas de l'expérience de CASE. Or, c'est seulement à partir du 15^e jour de l'incubation que le taux d'acide ascorbique diffère chez les embryons décapités et chez les embryons normaux. Il est possible d'envisager que la date de notre expérience ait été trop rapprochée de cette période critique pour que nous ayons pu déceler une différence nette entre les taux d'acide ascorbique chez l'embryon décapité et chez l'embryon normal. Toutefois, si l'on se réfère toujours à la courbe donnée par CASE, on peut constater que, pour des embryons âgés d'un peu moins de 16 jours, la quantité totale d'acide ascorbique n'atteint pas tout à fait 4 µg dans le cas des embryons décapités et que, pour les embryons normaux, elle demeure inférieure à 6 µg. Ces chiffres ne sont pas très différents des nôtres (3,7 µg et 5,3 µg) et d'ailleurs le pourcentage d'acide ascorbique rapporté au poids corporel que nous avons calculé avec les chiffres fournis par CASE est de $35 \times 10^{-6} \%$ pour les embryons normaux et il est de $34 \times 10^{-6} \%$ d'après les dosages que nous avons nous-mêmes effectués. D'après les résultats de CASE la quantité d'acide ascorbique surrénalien chez les embryons décapités ne s'accroît pratiquement pas à partir du 15^e jour et il en est de même d'ailleurs du poids des surrénales, alors que le poids corporel des embryons décapités augmente, mais moins que ne le fait celui des embryons normaux. Il nous paraît, de ce fait, plus exact de considérer que la décapitation se traduit par un arrêt ou un ralentissement très important de la croissance des surrénales, plutôt que par une action élective sur le taux d'acide ascorbique.

b. - Etude du développement du tissu cortical par rapport au tissu chromaffine et de la charge lipidique dans la surrénale.

La mise en évidence du tissu chromaffine par la technique de HILLARP et HOKFELT (1955) a été effectuée dans le cas des surrénales d'embryons âgés de 17 jours (10 embryons témoins, 15 embryons décapités et 3 embryons décapités et greffés). L'étude des surrénales des embryons décapités montre que le développement des cordons corticaux est irrégulier, ils sont fréquemment hypertrophiés dans la zone sous-capsulaire. Les variations individuelles peuvent être importantes et dans certains cas aucune différence ne peut être décelée avec les surrénales des embryons décapités et greffés, ni avec celles des embryons témoins (Planche XXXI, Fig. 1 à 7).

Les lipides ont été mis en évidence par la technique du noir Soudan B dans les surrénales d'embryons âgés de 19 jours. Trois embryons ont été utilisés dans chacune des séries (témoins, décapités, décapités et greffés). Nous avons pu constater que, par rapport aux surrénales des embryons témoins, le développement des cordons corticaux est très variable chez les embryons décapités (Planche XXXI, Fig. 8 et 9). Ils sont souvent moins nombreux et hypertrophiés dans la partie périphérique de la glande. La mise en évidence des lipides traduit cette hypertrophie des cordons corticaux, toutefois l'intensité de la réaction au noir Soudan paraît parfois moindre que chez les embryons témoins. Cette appréciation demeure subjective; les variations individuelles sont importantes et la même glande présente souvent des aspects différents selon la région considérée. Il n'est pas possible, dans ces conditions, de dire si le tissu adénohypophysaire différencié en greffe a ou non exercé une influence sur la charge lipidique. Une étude de l'ultrastructure pourrait fournir une réponse à ce sujet. On sait, en effet, qu'un traitement par l'ACTH ou la métopirone provoque chez l'embryon des modifications ultrastructurales, notamment en ce qui concerne les inclusions lipidiques (GRIGNON et coll., 1967).

La comparaison des surrénales, prélevées dans les différentes catégories d'embryons, montre que la charge lipidique et le développement relatif du tissu

PLANCHE XXXI

(Embryon de poulet)

Fig. 1 à 3 - Glandes surrénales d'embryons témoins âgés de 17 jours. La réaction de HILLARP et HOKFELT permet de distinguer le tissu cortical du tissu chromaffine. Les figures 1 et 2 montrent que la taille des cordons corticaux est assez homogène, toutefois dans la région périphérique (Fig. 3) certains cordons sont plus développés et le tissu chromaffine paraît moins abondant. Fig. 1 et 2, G x 120 ; Fig. 3, G x 330.

Fig. 4 à 7 - Glandes surrénales d'embryons décapités traitées par la réaction de HILLARP et HOKFELT. La surrénale représentée par la figure 4 montre une zone (A) au niveau de laquelle le développement relatif du tissu cortical par rapport au tissu médullaire diffère peu de celui observé chez les embryons témoins (Fig. 1). Par contre l'autre partie de la glande (B) est constituée par des cordons hypertrophiés, le tissu chromaffine est peu abondant à ce niveau. La figure 5 représente un autre exemple de surrénale, la zone médiane est formée par des cordons de petite taille alors que la zone périphérique est constituée par des cordons hypertrophiés (Fig. 6) comparables à ceux que l'on peut également observer dans le cas des embryons témoins (cf. Fig. 3). La figure 7 représente une surrénale d'embryon décapité dont les cordons corticaux sont au contraire de taille homogène. Fig. 4, 5 et 7, G x 120 ; Fig. 6, G x 330.

Fig. 8 - Surrénale d'embryon décapité, âgé de 19 jours, montrant la répartition des lipides colorés par le noir Soudan B. Dans la zone périphérique, les lipides sont localisés au niveau de cordons de grande taille alors que, dans la zone centrale, ils sont situés au niveau d'îlots de petite taille. Ce fait traduit le développement irrégulier des cordons interréniaux. G x 100.

Fig. 9 - Répartition des lipides colorés par le noir Soudan B dans la surrénale d'un embryon témoin âgé de 19 jours. La coloration n'est pas plus intense dans ce cas que celle observée chez les embryons décapités. G x 100.

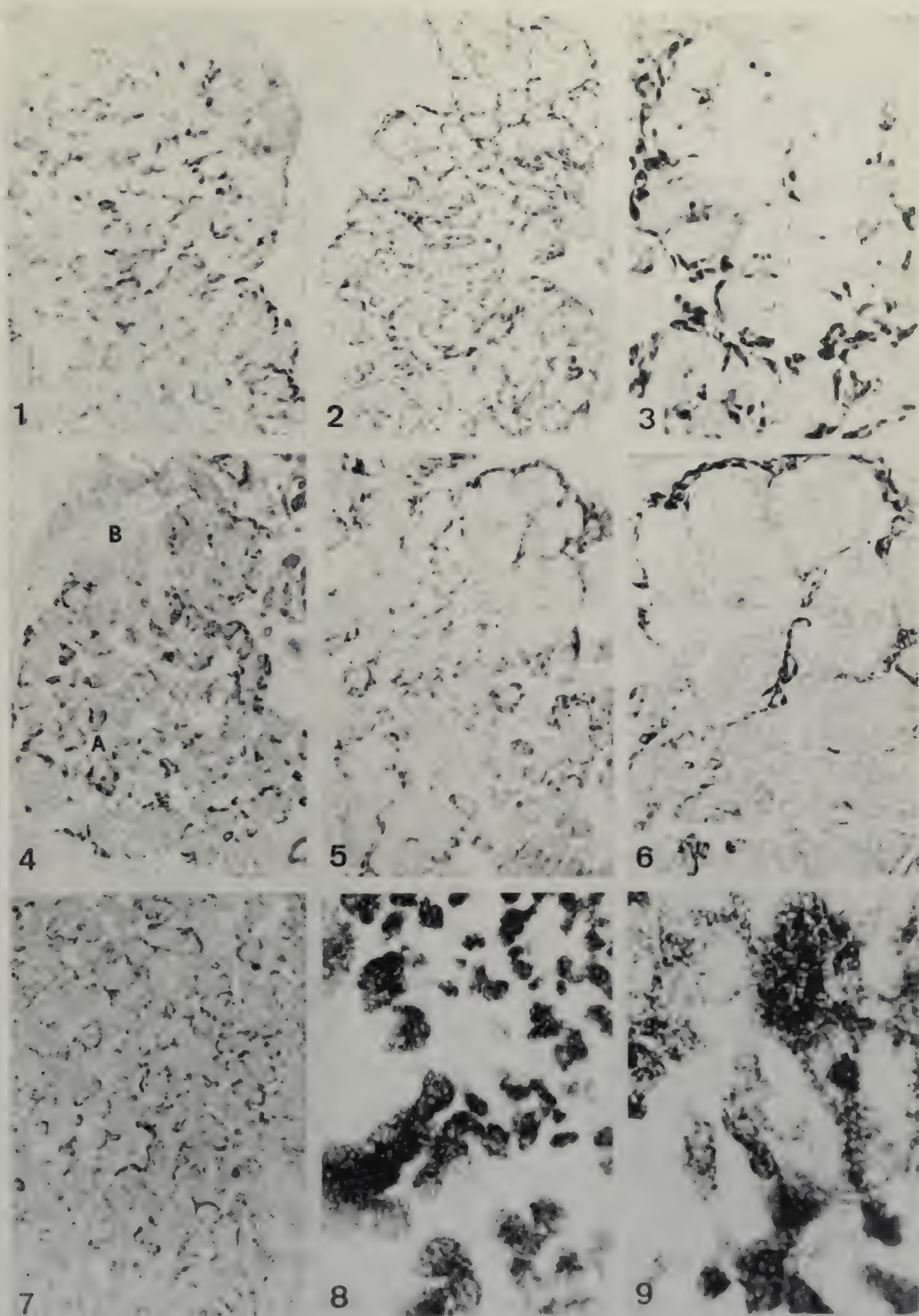


PLANCHE XXXI

cortical par rapport au tissu chromaffine ne constituent pas des critères suffisants pour juger du rôle de l'adénohypophyse dans le développement de la glande surrénale (Planche XXXI). Rappelons à cet égard que CASE (1952) considère que le tissu cortical représente 63 % de la glande chez l'embryon normal et 32 % seulement chez les embryons décapités. Ces résultats sont basés sur l'étude respectivement de 2 et de 3 embryons. Pour BETZ (1967) le tissu cortical représente 44 % de la glande chez les embryons normaux et 31 % chez les embryons hypophysectomisés. Nous ne pouvons pas confirmer cette observation. L'hypertrophie fréquente des cordons corticaux par rapport au tissu médullaire nous conduit plutôt à penser que le tissu cortical est comparativement plus développé chez les embryons décapités, toutefois l'importance des variations individuelles ne nous permet pas d'émettre une conclusion définitive sur cette question. ADJOVI (1970), en effectuant des décapitations tardives, signale chez les embryons sacrifiés 2 jours après la décapitation un moindre développement des cordons corticaux et une diminution de la teneur en lipides totaux; la teneur en cholestérol libre augmente à 11 et 12 jours, puis elle décroît et devient inférieure à celle des témoins. Chez les embryons sacrifiés après 4 jours de survie, la croissance des cordons interrénaux est retardée, mais la charge en lipides redevient normale. La charge en cholestérol présente également une certaine "récupération" et elle devient voisine de celle observée dans le cas des embryons témoins. La recharge en cholestérol observée les 3e et 4e jours chez les embryons décapités à partir de 12 jours est interprétée par ADJOVI comme pouvant résulter d'une certaine indépendance de la surrénale vis-à-vis de l'adénohypophyse.

Conclusion.

Le dosage de l'acide ascorbique surrénalien, ainsi que l'étude du développement relatif du tissu cortical et du tissu chromaffine ne nous ont pas permis de déceler de différences nettes entre les embryons normaux et les embryons décapités. Nous n'avons pas pu, de ce fait, déterminer si le tissu adénohypophysaire, différencié en greffe chorio-allantoïdienne, exerçait une influence sur la différenciation de la glande surrénale.

III. - Evolution du tissu adénohypophysaire au cours de greffes successives.

1.) Evolution du tissu adénohypophysaire différencié en greffe chorio-allantoïdienne.

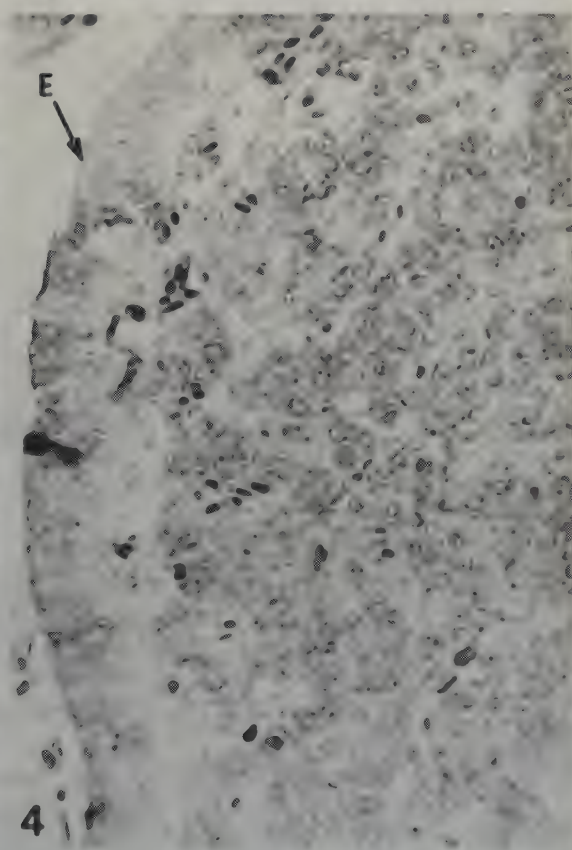
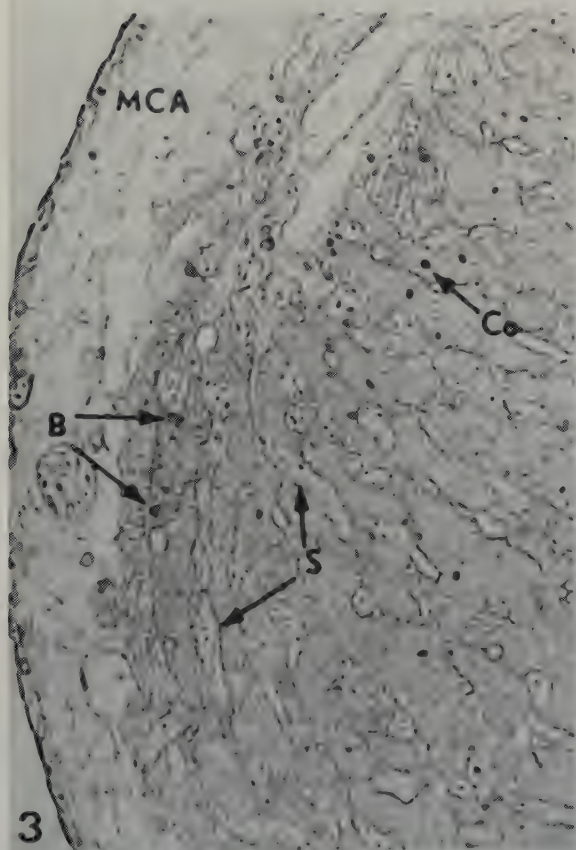
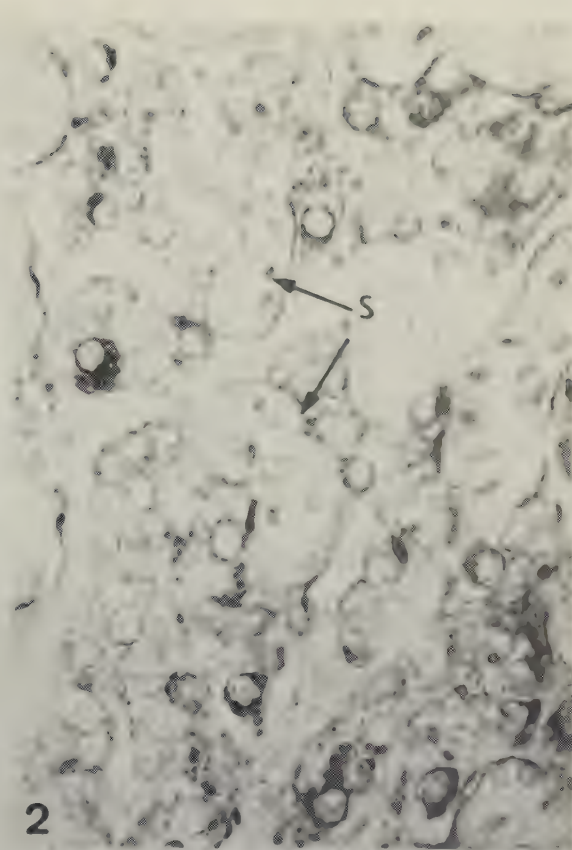
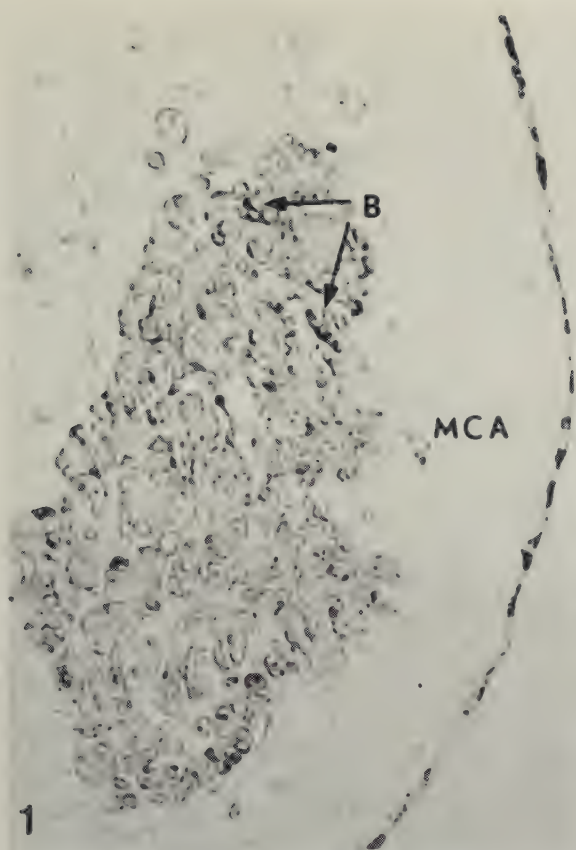
Les ébauches adénohypophysaires ont été isolées chez des embryons âgés de 4 jours et placées en greffes chorio-allantoïdiennes chez des embryons âgés de 6 jours et préalablement privés d'hypophyse et d'hypothalamus par décapitation. Les greffons, recherchés après 13 jours, ont été de nouveau greffés dans les mêmes conditions. A l'issue de 26 jours de greffe, certains greffons ont été fixés, les autres ont de nouveau été placés dans la chorio-allantoïde d'embryons porte-greffe décapités, pendant une période de 13 jours. Nous avons pu ainsi étudier du tissu adénohypophysaire ayant évolué en dehors de toute influence hypothalamique pendant 26 et 39 jours, l'âge total de ce tissu étant respectivement de 30 jours et de 43 jours. Dans le premier cas, il ne nous a été possible d'examiner que 8 greffons: 2 présentent une nécrose importante, les 6 autres montrent du tissu adénohypophysaire. Ce tissu se présente sous forme de cordons lâches séparés par de nombreux sinusoides. Ce tissu diffère peu de celui observé dans les greffons ayant évolué pendant 12 à 14 jours seulement dans la chorio-allantoïde. Les cellules APS positives sont nombreuses, bien différenciées (Planche XXXII, fig. 1). La coloration par le tétrachrome met en évidence des cellules acidophiles et cyanophiles; la chromophilie de ces cellules n'a pas été sensiblement modifiée par la prolongation de la greffe. Les cellules acidophiles se colorent à la fois par l'érythrosine et l'orange G.

4 greffons seulement ayant été maintenus pendant 39 jours dans la chorio-allantoïde ont pu être examinés. 1 était nécrosé, 2 présentent des modifications importantes de structure: des cellules groupées en flots sont séparées par du tissu fibreux; certaines cellules montrent une faible réactivité à l'APS, le tétrachrome ne met en évidence que des cellules peu chromophiles, cyanophiles essentiellement. Le matériel extra-cellulaire réagit fortement à l'APS. Le 4e

PLANCHE XXXII

(Embryon de poulet)

- Fig. 1 - Tissu adénohypophysaire formé à partir d'une poche de Rathke qui a évolué en greffe chorio-allantoïdienne pendant 26 jours, chez un embryon décapité. Les cellules APS positives sont nombreuses et bien différenciées, ce tissu ne diffère pas de celui qui a été maintenu en greffe pendant un laps de temps n'excédant pas la durée de l'incubation. APS et hématoxyline. G x 300.
- Fig. 2 - Tissu adénohypophysaire formé à partir du lobe céphalique de l'adénohypophyse prélevé chez un embryon de 16 jours. Les cellules APS positives sont bien différenciées et ce tissu est beaucoup moins dense qu'in situ, les sinusoides sanguins sont nombreux. APS et hématoxyline. G x 1000.
- Fig. 3 - Tissu adénohypophysaire formé à partir du lobe caudal de l'adénohypophyse prélevé chez un embryon de 16 jours et ayant évolué en greffe chorio-allantoïdienne pendant 13 jours. De nombreux sinusoides sanguins se sont infiltrés dans le parenchyme adénohypophysaire. Ce tissu montre de très rares cellules APS positives situées dans la zone périphérique. Des gouttelettes de colloïde apparaissent au sein des cordons cellulaires. APS. G x 240.
- Fig. 4 - Tissu adénohypophysaire formé à partir du lobe caudal de l'adénohypophyse prélevé chez un embryon âgé de 19 jours et ayant évolué en greffe chorio-allantoïdienne pendant 13 jours. Ce tissu ne montre que des cellules chromophobes. A la périphérie du greffon les cellules, le plus souvent ciliées, constituent une couche continue. Tétrachrome. G x 500.
- B : cellules APS positives ; Co : gouttelettes de colloïde
Ep: épithélium cilié ; MCA : mésenchyme chorio-allantoïdien ; S : sinusoides sanguins.



greffon étudié montre la structure lâche habituelle du tissu adénohypophysaire formé dans la chorio-allantoïde.

2.) Evolution du tissu adénohypophysaire différencié *in situ*.

Les adénohypophyses d'embryons âgés de 16 jours et de 19 jours ont été prélevées et divisées en trois parties. Ces parties correspondent approximativement aux 2/3 antérieurs du lobe céphalique, aux 2/3 postérieurs du lobe caudal et à une zone moyenne comportant 1/3 environ de chacun des lobes. Les explants correspondant au lobe céphalique et au lobe caudal ont été placés en greffe chorio-allantoïdienne chez des embryons âgés de 6 jours.

9 greffons correspondant au lobe céphalique ont été étudiés. Sauf dans un greffon qui montre de la nécrose, le tissu adénohypophysaire est bien vascularisé, des sinusoides sanguins nombreux se sont infiltrés entre les cordons cellulaires qui apparaissent beaucoup moins denses qu'ils ne le sont *in situ*. Les cellules APS positives sont nombreuses et bien différenciées, plus particulièrement à la périphérie du greffon (Planche XXXII, fig. 2). La coloration par le tétrachrome permet de distinguer des cellules cyanophiles et "acidophiles" qui sont comparables à celles qui existent *in situ* ou qui se différencient à partir de la poche de Rathke greffée dans la chorio-allantoïde. Dans plusieurs greffons des cellules ciliées, formant souvent une couche continue, tapissent des zones plus ou moins étendues de la périphérie du tissu adénohypophysaire ; la même observation a été effectuée dans le cas de la greffe de lobes caudaux (Planche XXXII, fig. 4).

8 greffons correspondant au lobe caudal ont été examinés et montrent du tissu adénohypophysaire. La structure pseudo-acineuse a disparu, le tissu adénohypophysaire est également lâche, les sinusoides sanguins sont développés. Il faut remarquer que des gouttelettes de colloïde, souvent très nombreuses, peuvent se former au sein des cordons cellulaires. Cette sécrétion de colloïde n'est pas accompagnée de la formation de vésicules ou d'*acini*, comme cela est parfois le cas *in situ* (Planche XXXII, fig. 3). Rappelons que cette évolution en

acini est très fréquente quand l'ébauche adénohypophysaire évolue au contact d'un mésenchyme ventral. Ce tissu, formé à partir de lobes caudaux prélevés chez des embryons au cours de la dernière semaine de l'incubation, se signale surtout par le fait que les cellules APS positives font presque entièrement défaut; 2 greffons seulement montrent quelques rares cellules faiblement APS positives, localisées dans la zone périphérique. Dans les autres greffons le tissu adénohypophysaire caudal ne présente aucune cellule cyanophile. La coloration par le tétrachrome ne permet pas de distinguer de cellules chromophiles. Bien que la vascularisation soit importante et que l'aspect général du tissu montre qu'il est sain, les cellules ne sont pas différenciées (Planche XXXII, fig. 4).

Une expérience comparable à la nôtre, et à laquelle nous nous sommes déjà rapporté, a été effectuée par BRASCH et BETZ (1971). Ces auteurs ont utilisé des adénohypophyses de poussins de 1 jour et leur but étant d'étudier la différenciation fonctionnelle de l'adénohypophyse, ils ne donnent que peu de détails sur la cytologie des greffons. Ils se bornent, en effet, à indiquer que le tissu est sain et comparable à celui de l'adénohypophyse maintenue in situ. Les photographies qu'ils fournissent ne permettent pas d'effectuer une comparaison précise avec le tissu adénohypophysaire que nous avons nous-même observé. Toutefois il nous a semblé que les sinusoides sanguins étaient nettement moins développés que dans le cas de nos greffons. Le fait que BRASCH et BETZ effectuent leurs greffes chorio-allantoïdiennes chez des embryons âgés de 10 jours, peut expliquer cette différence. Rappelons que WOLFF et LUTZ (1939), qui ont mis au point la technique des greffes chorio-allantoïdiennes précoces, voient dans cette technique l'avantage d'une prise rapide et d'une bonne irrigation du greffon, conditions particulièrement importantes, comme nous l'avons vu précédemment, dans le cas des greffes de tissu adénohypophysaire.

Conclusion.

Des greffes successives de tissu adénohypophysaire différencié en greffe chorio-allantoïdienne montrent que ce tissu ne poursuit pas son évolution

au-delà d'un stade que l'on peut assimiler à celui qui est atteint à la fin de l'incubation.

La greffe de tissu adénohypophysaire différencié in situ montre que le lobe céphalique et le lobe caudal survivent, mais ne poursuivent pas leur différenciation. On n'observe jamais, dans les conditions de la greffe chorio-allantoïdienne et en l'absence de contact avec l'hypothalamus, les modifications cytologiques importantes qui affectent l'adénohypophyse évoluant in situ et qui font suite à l'éclosion. Il convient de souligner que les cellules APS positives sont, le plus souvent, absentes dans le lobe caudal prélevé à la fin de l'incubation et greffé dans la chorio-allantoïde, alors que ces mêmes cellules se différencient à partir du segment caudal de la poche de Rathke évoluant dans les mêmes conditions.

DISCUSSION GENERALE

ET

CONCLUSION

Nos résultats nous permettent de distinguer plusieurs étapes dans l'évolution des rapports entre l'ébauche adénohypophysaire et les structures nerveuses diencéphaliques.

La première correspond à l'induction embryologique; elle s'étend jusqu'au stade de 25 somites environ. Au cours de cette période, la présence du plancher encéphalique est indispensable pour assurer la formation de la poche de Rathke et sa différenciation en tissu adénohypophysaire.

La deuxième période se caractérise par une très large autonomie de l'ébauche adénohypophysaire vis-à-vis de l'hypothalamus. La détermination des catégories cellulaires est précoce. Les conditions dans lesquelles évolue la poche de Rathke n'interviennent que comme "facteur modulateur" de leurs potentialités. La présence d'un mésenchyme support est indispensable pour assurer le développement de l'ébauche adénohypophysaire, sa nature ne revêt pas toutefois l'importance qu'elle montre dans le cas d'autres ébauches. Le mésenchyme intervient dans la mesure où il conditionne l'établissement de la vascularisation. Il semble que cette période de différenciation autonome de l'adénohypophyse se termine peu avant l'éclosion. La différenciation cytologique de l'adénohypophyse est accompagnée d'une différenciation fonctionnelle, également indépendante de l'hypothalamus, puisqu'elle apparaît chez des embryons privés d'hypothalamus par décapitation.

I. L'induction.

Les nombreuses études anatomiques d'embryons ou de fœtus dans les différentes classes de Vertébrés ont attiré l'attention sur les contacts particulièrement étroits qui existent entre l'ébauche adénohypophysaire et le plancher encéphalique. L'existence de ces contacts a suggéré que le plancher encéphalique joue un rôle dans la différenciation de l'adénohypophyse et des travaux expérimentaux, effectués surtout chez les Batraciens, sont venus étayer cette hypothèse. Les études expérimentales concernant la formation et l'évolution de la poche de Rathke chez les Oiseaux sont peu nombreuses. Les techniques utilisées : greffe de territoires plus ou moins étendus (STEIN 1929, 1933) et lésions par électrocoa-

gulation (HILLEMANN, 1943) n'ont pas permis de définir l'importance des rapports de la poche de Rathke avec les structures voisines. Les travaux de HILLEMANN n'ont porté que sur des stades précoces, antérieurs à la formation de la poche de Rathke.

Les tentatives de STEIN pour séparer l'ébauche adénohypophysaire des territoires contigus ont abouti, comme nous l'avons indiqué dans les données bibliographiques, à des résultats contradictoires. STEIN a en effet observé du tissu adénohypophysaire dans des greffons qui, théoriquement, ne comprenaient pas le territoire présomptif de cette ébauche.

La possibilité d'isoler, après action de la trypsine, l'ébauche adénohypophysaire et d'étudier son évolution dans des conditions bien précises, nous a permis de déterminer quels étaient au stade considéré, le tissu inducteur, le tissu compétent et les limites de la période d'induction.

1.) le tissu inducteur.

Nos expériences montrent que lorsque le territoire adénohypophysaire présomptif ou l'ébauche morphologiquement apparente, sont isolés avant le stade de 25 somites et placés en greffe, ils n'évoluent jamais en tissu adénohypophysaire. Seule la présence du tissu nerveux du plancher prosencéphalique peut permettre la différenciation de tissu adénohypophysaire à partir de l'ébauche épithéliale prélevée à des stades compris entre 17 et 25 somites. Les tissus nerveux autres que le plancher du prosencéphale qui ont été prélevés dans différentes régions n'induisent pas la poche de Rathke à former du tissu adénohypophysaire; les propriétés inductrices sont donc limitées à la région de l'ébauche hypothalamique présomptive. Ce résultat n'est pas en accord avec celui de NONAKA et SATO (1957) qui, chez le Crapaud, obtiennent la différenciation de tissu adénohypophysaire à partir de l'ébauche épithéliale greffée au contact de tissu nerveux encéphalique, même s'il ne s'agit pas du plancher du diencéphale. C'est, à notre connaissance, le seul exemple d'induction non spécifique obtenue dans le cas de l'adénohypophyse des Batraciens.

La différenciation de tissu adénohypophysaire, à partir de la poche de Rathke isolée à des stades compris entre 17 et 25 somites, ne requiert ni la présence de la chorde dorsale, ni celle de la poche de Seessel, ni même celle du mésenchyme homologue qui peut, sans inconvénient, être remplacé par un mésenchyme hétérologue. La présence d'un support mésenchymateux est toutefois indispensable à l'évolution de l'ébauche adénohypophysaire, quel que soit d'ailleurs le stade auquel on la prélève.

On ne peut cependant pas exclure formellement une action inductrice de la chorde ou de l'endoderme de l'intestin antérieur, ou même du mésenchyme préchordal; mais, si elle existe, cette action ne s'exercerait qu'à des stades antérieurs à celui de l'apparition de la poche de Rathke. Pour DALCQ (1948) la différenciation de la poche de Rathke serait due à une double induction exercée par le plancher prosencéphalique et par l'endoderme de l'intestin antérieur. WOLFF (1948) a émis l'hypothèse d'une action inductrice de la chorde qui pourrait intervenir parallèlement à celles exercées par le plancher encéphalique et par l'endoderme de l'intestin. Plusieurs observations viennent à l'appui de l'hypothèse d'une induction précoce résultant d'influences multiples exercées par les formations entourant la région préchordale. Rappelons que selon SPRATT (1947) c'est à ce niveau que les feuilletts embryonnaires s'isolent le plus tardivement. De plus, les différents tissus entourant la région préchordale (poche de Rathke, poche de Seessel, plancher encéphalique, partie antérieure de la chorde) montrent sur le plan de l'ultrastructure des granulations particulières que SCHECHTER (1970) a décrites chez le fœtus de lapin sous le nom de "odd boddies". De telles granulations ont également été observées chez l'embryon de trousse par ALLUCHON-GERARD (1970). ETKIN (1967) rapporte que, chez Rana sylvatica, l'ébauche adénohypophysaire présomptive ne se différencie pas en greffe si elle est séparée de la plaque neurale. Par contre, en présence de la partie antérieure de la plaque neurale, elle peut évoluer, mais ETKIN précise que la présence du mésenchyme préchordal dans l'explant est également indispensable.

L'hypothèse d'une intervention de tissus autres que le plancher encéphalique dans la formation de la poche de Rathke semble toutefois difficile à concilier avec les expériences de HILLEMANN (1943) qui portent sur des embryons de poulet à des stades qui n'excèdent pas 14 somites. Pour cet auteur, en effet, seule la destruction de l'ébauche hypothalamique présomptive empêche la différenciation de la poche de Rathke; une simple désorganisation du tissu nerveux du plancher encéphalique ne supprime pas l'influence de ce tissu. On peut se demander si la technique d'électrocoagulation utilisée par HILLEMANN permet la lésion élective d'un tissu, l'ébauche infundibulaire dans le cas de cette série expérimentale, ou bien si cette lésion n'est pas accompagnée par celle d'autres tissus: du mésenchyme préchordal et de la partie antérieure de la chorde par exemple.

Les résultats d'EYAL-GILADI (1958) obtenus chez les Batraciens et que nous avons rapportés précédemment, ainsi que l'existence chez des foetus de Mammifères de 2 poches de Rathke associées à 2 chordes dorsales (GIROUD et BOISSELOT, 1948; GIROUD et ROUX, 1959) trouveraient une explication dans une action inductrice exercée par la chorde. C'est à un stade précoce, si l'on se réfère à l'embryon de poulet, que cette action inductrice pourrait s'exercer.

Un rôle éventuel de la chorde, comme d'ailleurs du mésenchyme préchordal ou de l'endoderme de l'intestin antérieur, demande toutefois à être démontré; en tout état de cause, un rôle inducteur de ces structures ne s'exercerait qu'avant le stade de l'apparition de la poche de Rathke; passé ce stade, seule la présence du plancher encéphalique peut assurer la différenciation de la poche de Rathke.

Chez l'embryon de poulet le plancher diencéphalique conserve ses propriétés inductrices après le stade de 25 somites, comme le montre la différenciation en tissu adénohypophysaire des ébauches épithéliales prélevées avant ce stade et qui évoluent au contact des ébauches hypothalamiques provenant d'embryons âgés de 3 ou 4 jours. Il semble toutefois que cette action inductrice du plancher encéphalique ne persiste pas au-delà du 4^e jour de l'incubation, période à laquelle le diverticule hypothalamique se forme.

2.) le tissu compétent.

La localisation du territoire présomptif de l'adénohypophyse a été établie chez l'embryon de poulet par KINGSBURY (1922), STEIN (1929, 1933), RUDNICK (1932) et HILLEMANN (1943). Le matériel adénohypophysaire présomptif est localisé dans la partie axiale du blastoderme, en avant du prolongement céphalique. Chez l'embryon de 9 somites, l'aire adénohypophysaire présomptive se situe au niveau de l'ectoderme, juste en arrière du neuropore; par la suite, elle se trouve sur la face ventrale du prosencéphale, immédiatement en avant de la plaque orale.

Nos expériences montrent que, après le stade de 17 somites, seul le tissu épithélial constituant la poche de Rathke peut évoluer en tissu adénohypophysaire sous l'influence inductrice exercée par le plancher prosencéphalique. Des fragments d'ectoderme prélevés en avant de la poche de Rathke, au contact du prosencéphale, ainsi que l'endoderme de la poche de Seessel, placés au contact de l'ébauche infundibulaire, n'évoluent pas en tissu adénohypophysaire mais forment des vésicules.

Ce résultat n'est pas parfaitement en accord avec les travaux de HILLEMANN (1943). En effet, cet auteur, après avoir détruit l'ébauche adénohypophysaire présomptive au stade de 33 heures d'incubation (12 à 14 somites) constate que l'ectoderme stomodeal, qui est régénéré, est encore compétent pour constituer une hypophyse normale sous l'influence inductrice de la région infundibulaire. Cette régulation ne peut se produire que par suite de la prolifération du tissu ectodermique recouvrant le prosencéphale, prolifération qui a lieu après le stade de 14 somites. On peut se demander pourquoi, dans ces conditions, le même tissu ectodermique prélevé après le stade de 17 somites, quand il prolifère dans les greffons au contact du plancher prosencéphalique, ne peut évoluer en tissu adénohypophysaire comme il le fait in situ. Ceci amène à penser que, dans les expériences de HILLEMANN, tout le territoire présomptif n'a pas été détruit par l'électrocoagulation.

3.) le stade de l'induction

Que l'action inductrice du plancher prosencéphalique s'exerce seule ou parallèlement à celle d'autres tissus avant le stade de la formation de la poche de Rathke, elle est seule nécessaire au cours des stades ultérieurs. Nos résultats permettent de préciser que cette action inductrice doit se manifester jusqu'au stade de 25 somites au moins pour assurer la différenciation de tissu adénohypophysaire. Du tissu adénohypophysaire se forme, en effet, dans 26 cas sur 37 quand l'ébauche épithéliale est prélevée avant le stade de 25 somites et qu'elle évolue au contact du plancher prosencéphalique. Par contre, en l'absence du plancher encéphalique, cette évolution n'est obtenue que dans 7 cas sur 21 quand l'ébauche est prélevée après le stade de 25 somites. Le stade de 25 somites apparaît donc comme le stade le plus précoce à partir duquel l'ébauche adénohypophysaire séparée du plancher encéphalique, peut poursuivre son évolution, un contact avec le plancher encéphalique est souvent nécessaire au-delà de ce stade.

La différenciation de l'ébauche adénohypophysaire n'apparaît pas comme obéissant à une loi du "tout ou rien", mais montre, au contraire, une certaine progressivité qui se manifeste dans la formation des vésicules. Les vésicules sont particulièrement nombreuses et développées quand l'ébauche est prélevée à des stades compris entre 17 et 20 somites et qu'elle évolue sans contact avec le tissu nerveux. Au contact du tissu nerveux, le développement des vésicules est réduit et il en est de même quand l'ébauche est isolée à un stade voisin de 25 somites.

La présence de tissu nerveux prosencéphalique inhibe donc partiellement la prolifération de l'ébauche adénohypophysaire, même dans le cas où du tissu adénohypophysaire ne se différencie pas; la formation de ce tissu s'accompagne, en effet, d'une limitation importante des capacités de multiplication des cellules de l'ébauche. Cette action inhibitrice n'est pas spécifique de la région infundibulaire car elle se produit également lorsque l'ébauche épithéliale de l'adénohypophyse est placée au contact de tissus provenant de différents niveaux du tube nerveux.

Lorsqu'elle induit la différenciation de tissu adénohypophysaire, la présence de l'ébauche hypothalamique dans les greffons se traduit par:

- la limitation de la prolifération
- la formation de cordons cellulaires qui peuvent ou non être accompagnés de vésicules. Rappelons que l'évolution de la poche de Rathke prélevée à des stades antérieurs à 25 somites, a été étudiée seulement en présence de mésenchymes axiaux (céphalique ou somitique).
- la différenciation des catégories cellulaires.

L'existence d'une "période critique" jusqu'à laquelle l'influence inductrice du plancher encéphalique doit continuer à s'exercer sur l'ébauche adénohypophysaire présomptive a également été démontrée chez la Souris par DOSKOCIL (1967). La culture par la méthode transfiltre de l'ébauche hypothalamique et de l'ectoderme adénohypophysaire présomptif, prélevés chez des embryons n'ayant pas dépassé 8 jours 1/2, a permis à DOSKOCIL d'obtenir une évolution de l'ébauche adénohypophysaire. Dans ces conditions, elle forme des bourgeons, des invaginations et se transforme en tube. Pour cet auteur, la période d'induction se termine au stade de 8 jours 1/2 de gestation. Passé ce stade, l'épithélium adénohypophysaire présomptif isolé peut également former des invaginations et évoluer en tube, ce qui n'est pas le cas quand il est prélevé avant 8 jours et 1/2 et cultivé seul. L'ébauche adénohypophysaire serait donc déterminée, dans le cas de la souris, avant qu'elle ne soit morphologiquement indiquée, alors que, chez l'embryon de poulet, cette ébauche n'est déterminée que plus tardivement. En effet, elle doit poursuivre son évolution au contact du plancher encéphalique jusqu'au stade de 25 somites au moins, bien que la poche de Rathke soit morphologiquement apparente dès le stade de 17 somites. On peut toutefois se demander si l'évolution de l'ectoderme adénohypophysaire observée par DOSKOCIL constitue un critère suffisant pour considérer que cette ébauche est effectivement déterminée aussi précocement, rien ne prouve, en effet, qu'elle pourrait poursuivre son évolution jusqu'à la différenciation des types cellulaires. Il est possible qu'il ne s'agisse là que d'une première phase de l'induction comparable à celle que

nous avons distinguée dans le cas de l'adénohypophyse de l'embryon de poulet. DOSKOCIL précise d'ailleurs que l'épithélium adénohypophysaire présomptif, prélevé avant le stade de 8 jours 1/2, peut proliférer en l'absence du plancher encéphalique mais dans ces conditions, il ne forme pas d'invaginations et n'évolue pas en tube. Pour affirmer que la période d'induction cesse bien effectivement au stade de 8 jours 1/2 de gestation, il aurait fallu obtenir, à partir de l'ébauche induite in vitro par le tissu nerveux ou isolée après le stade de 8 jours et demi de gestation, la différenciation de tissu adénohypophysaire comportant les catégories cellulaires caractéristiques de l'adénohypophyse ayant évolué in situ. Nous avons nous-mêmes effectué, chez l'embryon de souris, des expériences (FERRAND et NANOT, 1968) qui montrent que, comme chez l'embryon de poulet, l'ébauche adénohypophysaire manifeste, après le stade de l'induction, une certaine indépendance vis-à-vis des structures nerveuses diencéphaliques. Dans le cas de la Souris, cette autonomie est certaine à partir du stade de 10 jours 1/2 de gestation au moins en ce qui concerne la différenciation de la pars distalis.

Rappelons enfin que de l'ensemble des travaux effectués chez l'embryon de Batracien que nous avons analysés, il ressort que, comme chez l'embryon de poulet et chez l'embryon de souris, on puisse également distinguer dans le développement de l'adénohypophyse une phase au cours de laquelle l'ébauche hypothalamique doit exercer une action inductrice sur l'ébauche adénohypophysaire pour que cette dernière puisse évoluer en tissu glandulaire. Parmi les travaux que nous avons rapportés, ceux de BLOUNT (1945) sont en accord avec cette façon de voir. ATWELL (1937) et ETKIN (1958) ont montré, chez Rana pipiens et Rana sylvatica, cette évolution dans les rapports entre l'ébauche adénohypophysaire et le plancher encéphalique. Chez Rana sylvatica l'ébauche adénohypophysaire présomptive, séparée du tissu nerveux au début du stade neurula et explantée dans le bourgeon caudal, ne peut pas se différencier. Par contre, si l'ébauche est prélevée un peu plus tardivement au stade du bourgeon caudal, elle peut se différencier en greffe ectopique et former à la fois une pars distalis et une pars intermedia.

4.) Rôle des ébauches hypothalamique et neurohypophysaire

dans l'évolution morphologique de l'adénohypophyse.

Après le stade de l'induction, la différenciation cytologique de l'adénohypophyse est donc indépendante de l'hypothalamus. Toutefois, la subdivision en 2 lobes telle qu'elle existe dans l'adénohypophyse, ne se retrouve dans le tissu différencié en greffe que lorsque la poche de Rathke est prélevée chez des embryons âgés de 3 jours et demi au moins. Nous avons vu précédemment que la nature du mésenchyme support et la vascularisation peuvent d'ailleurs modifier dans des proportions variables la structure générale du tissu formé en greffe et en particulier la subdivision en 2 lobes. La poche de Rathke peut donc, sauf lorsqu'elle évolue dans la chorio-allantoïde, donner naissance à 2 lobes comparables à ceux qui se différencient in situ et cette évolution ne peut être observée que lorsque la poche de Rathke est séparée du tissu nerveux après 3 jours et demi, lorsqu'elle présente une subdivision en 2 segments ou lorsqu'elle évolue au contact du plancher encéphalique, quand elle est prélevée avant le stade de l'induction. Dans ce dernier cas, la distinction de zones correspondant au lobe céphalique et au lobe caudal n'est que rarement possible.

Le problème de l'intervention de l'ébauche hypothalamique dans cette subdivision de l'adénohypophyse en 2 lobes se pose donc, parallèlement d'ailleurs, au problème du rôle de l'ébauche épithéliale dans la différenciation de la neurohypophyse.

Il est démontré que l'origine embryologique de l'adénohypophyse explique l'existence de deux parties dans l'adénohypophyse des Oiseaux et des Reptiles. Cette bipartition est due au fait que les segments céphalique et caudal se développent de façon à peu près équivalente. Il n'en va pas de même chez les autres Vertébrés; chez les Mammifères, le segment céphalique (ou oral) ne se développe pas, l'adénohypophyse se forme à partir du seul segment caudal (ou aboral) (WINGSTRAND, 1951, 1956; HERLANT, 1954; ENEMAR, 1960).

Si les rapports entre l'ébauche adénohypophysaire et l'ébauche hypothalamique peuvent être interrompus à partir du stade de 25 somites sans empêcher la différenciation des types cellulaires, il n'en est pas de même en ce qui concerne la formation des 2 lobes, céphalique et caudal, de l'adénohypophyse. Certains auteurs, GRIGNON (1956) notamment, ont invoqué une action inhibitrice exercée par l'ébauche nerveuse sur l'ébauche adénohypophysaire pour expliquer que le développement du lobe caudal soit plus lent que celui du lobe céphalique. Nos expériences montrent, à ce sujet, que le lobe caudal prolifère plus rapidement en position ectopique qu'in situ. La lumière, qui persiste dans le lobe caudal de l'adénohypophyse jusqu'au 13e jour de l'incubation, disparaît plus précocement quand l'ébauche prolifère indépendamment du tissu nerveux. C'est, en particulier, le cas lorsque la poche de Rathke évolue en greffe chorio-allantoïdienne quand elle a été isolée au stade de 4 ou 5 jours, alors que la subdivision en deux segments est bien marquée. Cette prolifération plus rapide s'accompagne d'ailleurs d'une différenciation particulière des cellules APS positives.

5.) Rôle de l'ébauche adénohypophysaire dans la formation de la neuro-

hypophyse.

Bien que notre étude ait été axée sur la différenciation de l'adénohypophyse, nous avons pu effectuer quelques observations en ce qui concerne le rôle éventuel de l'ébauche adénohypophysaire dans l'évolution de l'ébauche hypothalamique et la formation de la neurohypophyse. Les observations que nous avons effectuées sont purement morphologiques; nous ne pouvons apporter aucune précision sur le plan cytologique, nous n'avons pas, en particulier, effectué l'étude des neurosécrétions.

In situ, la neurohypophyse se forme à partir d'un diverticule du plancher encéphalique qui apparaît vers le 4e jour de l'incubation et s'enfonce dans le mésenchyme. Le développement de ce diverticule hypothalamique accompagne la flexion du segment postérieur de la poche de Rathke. C'est le 6e jour de l'incubation que ce diverticule infundibulaire primitif donne naissance au niveau de son

extrémité à 2 lobes latéraux. A partir de ce stade, le lobe nerveux va, selon GRIGNON (1956), se former selon deux processus. La paroi des diverticules bourgeonne pour donner des tubes qui peuvent eux-mêmes se ramifier, ce sont les lobules primaires. Des lobules secondaires vont apparaître le 10^e jour de l'incubation: la limitante de la paroi des lobules primaires disparaît, permettant ainsi à du matériel glial de s'échapper de la paroi nerveuse pour former des flots de cellules et de fibres, qui vont progressivement acquérir une limitante externe. Ces lobules secondaires, dépourvus de cavité épendymaire, complètent la mise en place de la neurohypophyse.

Dans nos expériences, nous avons prélevé le plancher prosencéphalique ou diencephalique chez des embryons à des stades compris entre 12 et 25 somites. Que l'ébauche hypothalamique soit prélevée en étant maintenue au contact de l'ébauche adénohypophysaire, ou qu'elle en soit momentanément séparée pour lui être réassociée in vitro au sein d'un mésenchyme homologue, elle prolifère de façon importante et peut donner naissance à un ou plusieurs diverticules (Planche XIV, Fig.1 à 3). Ces diverticules sont généralement très développés et séparés les uns des autres, ils correspondent aux diverticules hypothalamiques primitif et latéraux qui apparaissent in situ. Toutefois l'évolution ultérieure ne se poursuit pas et nous n'avons jamais observé de lobules comparables à ceux qui se forment in situ, ni retrouvé de tissu rappelant la structure de la neurohypophyse. Ces diverticules peuvent être situés au voisinage du tissu adénohypophysaire ou en être plus ou moins séparés par du tissu conjonctif ou musculaire, selon les greffons. La formation de ces diverticules n'est pas due à la présence de la poche de Rathke, puisqu'ils apparaissent également quand l'ébauche hypothalamique a été associée in vitro à d'autres tissus épithéliaux comme la poche de Seessel ou l'ectoderme prosencéphalique. D'ailleurs l'ébauche adénohypophysaire, isolée avant le stade de 25 somites et associée à du tissu prélevé à différents niveaux de l'axe nerveux (partie antérieure du télencéphale, plancher du rhombencéphale, tube neural...) ne semble exercer aucune influence sur ces tissus qui, bien qu'ils prolifèrent de façon importante, ne donnent jamais naissance à des diverticules comparables à ceux qui se forment à partir de l'ébauche hypothalamique, que ce soit in situ, ou en greffe.

Il apparaît ainsi que, si on peut envisager un rôle de l'ébauche hypothalamique ou neurohypophysaire dans la formation des deux segments de la poche de Rathke, la présence de la poche de Rathke n'est pas suffisante aux stades considérés pour assurer la différenciation de la neurohypophyse. Les autogreffes d'hypophyse, sous la capsule rénale, pratiquées par STUTINSKY (1958) chez le Rat adulte, ont permis à cet auteur de montrer que, si le lobe antérieur se dégranule et si le lobe intermédiaire subit certains remaniements, ils gardent leurs caractères fondamentaux et sont facilement identifiables. Il n'en va pas de même pour le lobe nerveux, qui subit des transformations profondes et ne peut être identifié que par les rapports qu'il montre avec les autres lobes. L'hypothèse d'une formation d'un lobe nerveux profondément modifié et impossible à reconnaître du fait que les rapports entre les différents tissus sont fortement perturbés au cours du développement en greffe, ne peut pas être formellement rejetée, mais elle est très improbable. Le développement de la neurohypophyse paraît particulièrement dépendre du respect de l'intégralité des structures diencéphaliques.

Il convient, par ailleurs, de rappeler que le rôle de la neurohypophyse dans la différenciation de la pars intermedia à partir de la poche de Rathke a été démontré chez les Batraciens. Nous avons également montré que chez la Souris (FERRAND et NANOT, 1968), l'ébauche adénohypophysaire séparée du plancher encéphalique chez des embryons de 10 jours et demi et greffée dans le coelome d'un embryon de poulet évolue en pars distalis mais la fente hypophysaire disparaît précocement et la pars intermedia ne se différencie pas. Ces deux observations viennent appuyer l'hypothèse selon laquelle chez l'embryon de poulet les ébauches hypothalamique et neurohypophysaire pourraient encore intervenir après le stade de l'induction dans la différenciation morphologique de l'adénohypophyse, cette intervention étant toutefois limitée, puisqu'elle n'induit pas la formation d'une pars intermedia.

II. - La différenciation de l'adénohypophyse après le stade de l'induction.

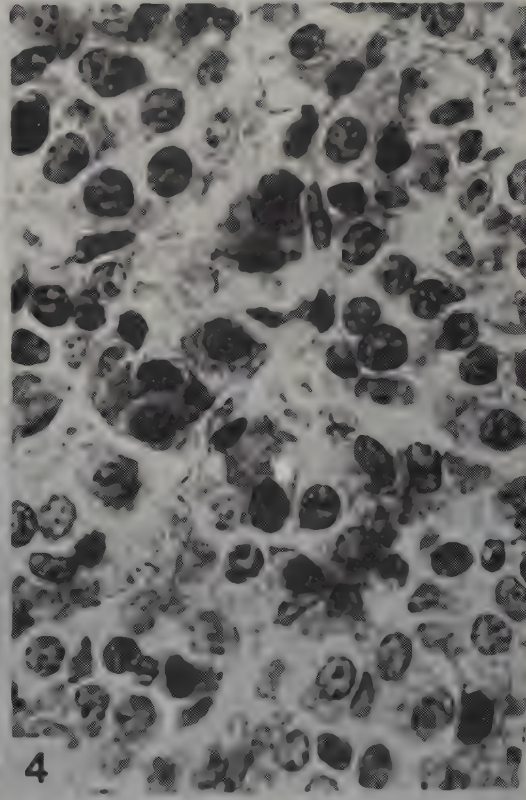
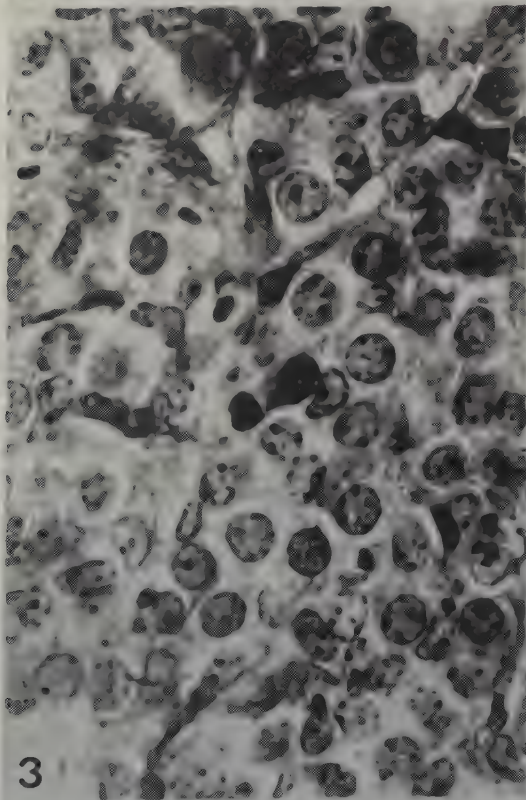
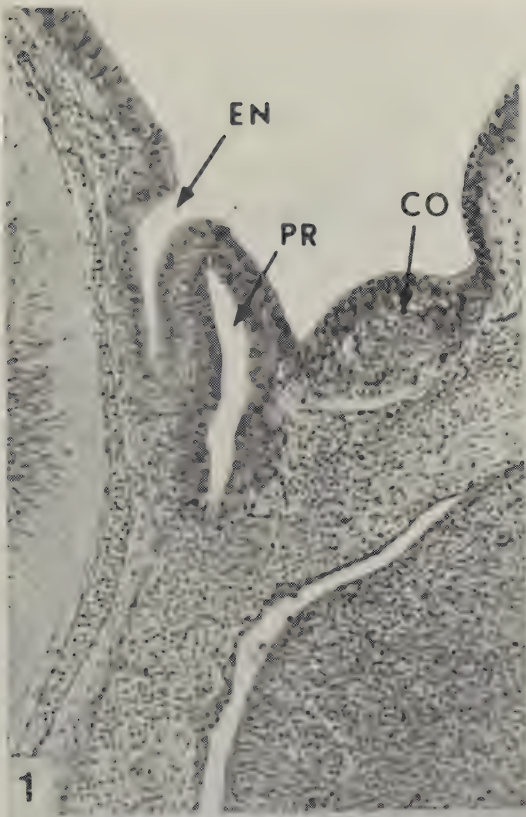
1.) L'indépendance de la différenciation cytologique vis-à-vis de

l'hypothalamus après le stade de l'induction.

Les résultats de nos expériences montrent que la poche de Rathke peut évoluer en tissu adénohypophysaire à partir du stade de 25 somites en dehors de tout contact avec l'hypothalamus ou avec son ébauche. Cette observation contredit les expériences de STEIN (1929, 1933); pour cet auteur, en effet, la différenciation de l'ébauche adénohypophysaire est liée à la présence du tissu nerveux et ceci quel que soit le stade considéré et jusqu'au 5e jour de l'incubation au moins. Le fait que cette différenciation soit également obtenue chez des embryons privés d'hypothalamus et d'hypophyse par décapitation précoce permet d'exclure toute influence de facteurs hypothalamiques véhiculés par le sang et dont l'existence a été envisagée par PASTEELS (1963). La différenciation que nous avons obtenue et qui se traduit à la fois sur le plan de la prolifération cellulaire et sur le plan de la différenciation cellulaire, traduit deux phénomènes: d'une part que l'action inductrice exercée par le plancher encéphalique n'est plus nécessaire mais également que les relations hypothalamo-hypophysaires ne revêtent pas chez l'embryon la même importance que chez l'adulte. La différenciation des types cellulaires résulte donc d'une détermination acquise précocement. L'autonomie de la différenciation adénohypophysaire n'est pas particulière à l'embryon d'Oiseau, puisque nous l'avons également observée au cours d'expériences effectuées chez l'embryon de souris (FERRAND et NANOT, 1968). L'ébauche adénohypophysaire est isolée chez des embryons de souris âgés de 10 jours et demi ou 11 jours après action de la trypsine (Planche XXXIII, Fig. 1). La poche de Rathke est ensuite associée à du mésenchyme céphalique hétérologue et cultivée in vitro dans le milieu liquide de RINALDINI (1959). L'explant obtenu est placé en greffe coelomique chez un embryon de poulet. Le greffon est recherché et fixé après 14 jours de greffe. 109 greffes ont été effectuées. 23 greffons ont été retrouvés à la dissection et étudiés, 17 ont montré du

PLANCHE XXXIII
(Embryon de souris)

- Fig. 1 - Coupe sagittale de la tête d'un embryon de souris de 11 jours de gestation. La poche de Rathke est étroitement appliquée au plancher diencéphalique entre le chiasma optique et l'ébauche de l'hypophyse nerveuse. Hématoxyline et éosine . G x 100.
- Fig. 2 - Tissu adénohypophysaire différencié à partir d'une poche de Rathke de Souris prélevée chez un embryon âgé de 10 jours 1/2. La poche de Rathke a été associée in vitro à du mésenchyme céphalique hétérologue prélevé sur le même embryon et placée en greffe coelomique chez un embryon de poulet âgé de 3 jours 1/2. Tétrachrome. G x 200.
- Fig. 3 - Antéhypophyse d'une souris de 6 jours. Cellules contenant du matériel APS positif. APS et hématoxyline. G x 1000.
- Fig. 4 - Tissu adénohypophysaire différencié dans un greffon à partir d'une poche de Rathke prélevée chez un embryon de 11 jours et associée in vitro à du mésenchyme céphalique hétérologue. L'explant a été placé en greffe coelomique chez un embryon de poulet pendant 14 jours. Des cellules APS positives se sont différenciées. APS et hématoxyline. G x 1000.
- AH : tissu adénohypophysaire ; C : grains de charbon ayant servi à marquer l'explant ; CO : chiasma optique ; EN : ébauche de la neurohypophyse ; M : mésenchyme ; PR : poche de Rathke.



tissu adénohypophysaire (Planche XXXIII, Fig. 2). Le mésenchyme associé à la poche de Rathke a généralement assez peu proliféré. Le tissu adénohypophysaire formé a une structure comparable à celle de la pars distalis ayant évolué in situ. La coloration par le tétrachrome nous a permis de mettre en évidence des cellules acidophiles et cyanophiles. Les cellules cyanophiles réagissent également à l'APS, cette réaction à l'APS est généralement comparable à celle qui est observée chez les souris âgées de quelques jours (Planche XXXIII, fig. 3 et 4). Il convient de souligner que la fente hypophysaire persiste chez les jeunes souris témoins, alors qu'elle a disparu, dans tous les cas sauf un, quand le tissu adénohypophysaire a évolué en greffe. La pars intermedia ne se différencie jamais, ce qui souligne la dépendance de l'évolution de cette partie de l'adénohypophyse vis-à-vis de l'ébauche hypothalamique. Ce résultat rejoint ceux qui ont été obtenus chez les Batraciens et qui montrent que la détermination de la pars intermedia est plus tardive que celle de la pars distalis. La possibilité pour l'ébauche adénohypophysaire de s'autodifférencier quand elle est séparée du plancher encéphalique, au moins chez certaines espèces, a été mise en évidence chez les Batraciens par ATWELL (1937) et ETKIN (1958) notamment. Cette autodifférenciation n'est d'ailleurs possible qu'à partir d'un stade déterminé, comme cela est également le cas chez l'embryon de poulet.

Dans les expériences pratiquées chez l'embryon de souris, la poche de Rathke a été seulement associée à du mésenchyme céphalique hétérologue et nous ne pouvons pas, de ce fait, donner de précisions particulières en ce qui concerne l'influence éventuelle de la nature du mésenchyme support, si ce n'est toutefois qu'au stade considéré la poche de Rathke peut évoluer indépendamment du mésenchyme homologue.

Les expériences que nous avons effectuées chez l'embryon de poulet sont plus variées et nous ont permis de préciser que la différenciation des catégories cellulaires ne dépend pas étroitement du mésenchyme support utilisé. Même lorsque la distinction de zones correspondant aux lobes céphalique et caudal n'est pas possible, nous avons pu mettre en évidence :

- Des cellules "acidophiles céphaliques" ou cellules A2 qui, avec le tétrachrome, se colorent par l'érythrosine. Ces cellules peuvent manifester une certaine affinité pour l'orange G dans le cas de l'adénohypophyse prélevée à la fin de l'incubation, comme d'ailleurs dans le cas de tissu adénohypophysaire maintenu en greffe pendant une longue durée.

- Des cellules "cyanophiles céphaliques" qui se colorent en bleu par le tétrachrome ; elles sont de différentes tailles, les plus volumineuses étant souvent localisées à la périphérie du tissu adénohypophysaire. Les cellules cyanophiles réagissent à l'APS. Le traitement par l'APS associé au bleu alcian permet de distinguer plusieurs catégories de cellules. Les premières, essentiellement les plus volumineuses, se colorent en bleu, elles correspondent, comme nous l'avons vu, aux grosses cellules qui apparaissent sur le bord ventral du lobe céphalique in situ, elles ont été observées par différents auteurs, GRIGNON (1956, 1957) et TIXIER-VIDAL (1958) notamment. Les secondes, de taille plus faible, réagissent uniquement à l'APS, elles sont, aux stades considérés, disséminées dans toute la zone céphalique. La troisième catégorie de cellules réagit à la fois à l'APS et au bleu alcian ; leur localisation est variable, mais elles sont surtout situées à la périphérie des greffons.

- Des cellules "acidophiles caudales" ou cellules A1. Ces cellules se colorent généralement par l'orange G du tétrachrome ; ce sont ces cellules qui montrent dans les conditions expérimentales le plus de variations : elles peuvent, dans certains cas, faire totalement défaut, ou au contraire être bien différenciées. Cette observation peut, semble-t-il, facilement s'expliquer par le fait que ces cellules se différencient tardivement in situ vers le 17^e jour de l'incubation. Or l'âge présumé du tissu adénohypophysaire différencié en greffe correspond souvent à 17 ou 18 jours. Les différents traitements subis par la poche de Rathke (dissociation, culture in vitro, greffe) peuvent retarder, de façon très variable selon les cas, la différenciation des types cellulaires et expliquer l'absence des cellules orangeophiles. Il est d'ailleurs à remarquer que c'est effectivement dans les greffons les plus "âgés" que ces cellules sont présentes et à cet égard l'exemple du

tissu adénohypophysaire de caille formé en greffe chorio-allantoïdienne chez l'embryon de poulet est particulièrement démonstratif. En effet ce tissu atteint, dans ces conditions, un âge présumé égal ou même supérieur à 16 jours, durée de l'incubation chez la Caille.

- Des cellules "cyanophiles caudales". A 17 ou 18 jours ces cellules sont très rares dans l'adénohypophyse différenciée in situ, elles réagissent à l'APS et sont de petite taille. Elles ont exceptionnellement été observées dans le tissu obtenu en greffe coelomique, par contre les conditions de la greffe chorio-allantoïdienne se sont montrées particulièrement favorables à leur différenciation.

En ce qui concerne le nombre et non plus la nature des types cellulaires, il convient de rappeler que la comparaison du tissu adénohypophysaire, obtenu en greffe avec le tissu adénohypophysaire différencié in situ, est difficile à faire, c'est pourquoi nous n'avons signalé des différences que lorsqu'elles étaient évidentes.

2.) Rapports de la poche de Rathke et de la poche de Seessel

Nous avons rapporté les opinions de différents auteurs (WINGSTRAND, 1951; ASSENMACHER, 1952; GRIGNON, 1956) au sujet de la participation éventuelle de la poche de Seessel à la genèse du tissu adénohypophysaire. Selon ces auteurs, si cette participation ne peut être formellement exclue, elle ne saurait être que minime. Nos résultats nous permettent d'exclure cette participation; nous avons, en effet, constaté que la suppression de la poche de Seessel ne se traduit par la disparition d'aucun des types cellulaires. Par ailleurs, l'activité prolifératrice de la poche de Seessel est extrêmement limitée, quel que soit le mésenchyme au contact duquel on la place. Elle forme des vésicules rares et peu développées ou même, dans de nombreux greffons, elle disparaît totalement.

3.) Origine des structures vésiculaires qui se forment en greffe ou in situ avec le tissu adénohypophysaire.

L'ébauche épithéliale de l'adénohypophyse peut, quelles que soient les conditions dans lesquelles on la place, à l'exception toutefois de la greffe chorio-

allantoïdienne, former des vésicules. Ces vésicules apparaissent soit seules, soit associées à du tissu adénohypophysaire selon les conditions de développement de l'ébauche épithéliale. La formation de vésicules seules est de règle lorsque l'ébauche est prélevée avant le stade de la détermination et qu'elle n'est pas associée au plancher prosencéphalique. Lorsque du tissu adénohypophysaire se différencie, il est le plus souvent accompagné de vésicules en plus ou moins grand nombre, ces vésicules proviennent en partie de territoires épithéliaux entraînés avec l'ébauche adénohypophysaire, mais également de la poche de Rathke elle-même. Cette évolution particulière du tissu adénohypophysaire est favorisée par certains mésenchymes, les mésenchymes splanchniques essentiellement et le mésenchyme de membre dans une moindre mesure.

La formation de vésicules par des ébauches épithéliales isolées, puis associées à des mésenchymes hétérologues, a été décrite par différents auteurs; elle se produit généralement quand le mésenchyme utilisé se montre défavorable à la différenciation de ces ébauches. C'est le cas pour les mésenchymes dorsaux (céphalique et somitique), ainsi que pour le mésenchyme de membre quand ils sont employés comme support de l'endoderme hépatique (N. LE DOUARIN, 1964; N. LE DOUARIN et CHAUMONT, 1966; N. LE DOUARIN et coll., 1968; FONTAINE, 1971). L'ébauche pulmonaire associée à du mésenchyme céphalique ou somitique forme également des vésicules (DAMERON, 1968). Les descriptions et les photographies de ces vésicules fournies par les auteurs précédemment cités indiquent que ces formations sont peu nombreuses, deux ou trois au plus et constituées par un épithélium plat. Dans le cas des bourgeons hépatiques et pulmonaires, l'absence de différenciation au contact de mésenchymes défavorables est donc liée à une prolifération limitée. Il n'en va pas de même dans le cas de l'ébauche adénohypophysaire qui, comme nous l'avons déjà souligné, peut proliférer de façon importante pour former uniquement des vésicules qui sont souvent nombreuses. Il semble que ce soit là une particularité de l'ébauche adénohypophysaire.

Les ébauches adénohypophysaires, prélevées le 6^e jour de l'incubation et associées à du mésenchyme de gésier, nous ont permis de démontrer que les vésicules, dont la formation est favorisée par ce type de mésenchyme, peuvent se former à partir de cellules appartenant effectivement à l'ébauche. Il n'est pas possible de dire, avec certitude, quelle est l'origine de ces cellules et notamment s'il s'agit de cellules chromophobes. Toutefois le fait que, dans certains greffons évoluant au contact de mésenchymes splanchniques, une partie importante de l'ébauche ait évolué en vésicules (toute la "zone caudale" dans plusieurs cas) amène à penser que toutes les cellules sont susceptibles de former des vésicules. Cette aptitude à évoluer en vésicules pourrait toutefois ne se manifester que dans certaines conditions, non seulement chez l'embryon et l'Oiseau adulte, mais chez de nombreux Vertébrés.

4.) Le rôle du mésenchyme support.

Un support mésenchymateux est indispensable pour que l'ébauche de l'adénohypophyse puisse se développer, comme cela est le cas d'ailleurs pour la plupart des ébauches épithéliales. Nos résultats confirment à ce sujet les observations de SOBEL (1958) effectuées au cours d'expériences de culture in vitro d'adénohypophyse d'embryons de poulets âgés de 8 jours. Séparées du mésenchyme homologue, les cellules adénohypophysaires ne se multiplient et ne se différencient pas; l'apport d'un tissu support, sous forme de périchondre, permet aux cellules adénohypophysaires de reprendre leur évolution. Dans le cas de l'adénohypophyse, l'importance de la présence d'un mésenchyme support en culture in vitro a été soupçonnée par H. MOSCONA et A. MOSCONA (1952), qui n'ont obtenu par cette technique que de très petits explants, malgré la prolongation des cultures. Ces auteurs ont envisagé que la perte de mésenchyme, constatée lors des repiquages, pouvait être l'une des causes de ce faible développement in vitro. Les données concernant le rôle du mésenchyme dans la différenciation de l'adénohypophyse dans le cas d'animaux appartenant à d'autres classes zoologiques sont très rares. ETKIN (1967) précise que, chez Rana sylvatica, la greffe de l'ébauche adénohypophysaire, prélevée au stade de la plaque neurale et greffée dans le bourgeon caudal, permet d'observer le développement de l'adénohypophyse (pars distalis et pars

intermedia) dans la mesure où l'ébauche est accompagnée par le bord antérieur de la plaque neurale et par du mésenchyme préchordal. Toutefois, cet auteur ne dit pas si ce mésenchyme est indispensable en tant que simple support ou s'il intervient dans les phénomènes d'induction.

Les expériences comportant des greffes coelomiques de poches de Rathke associées à divers mésenchymes permettent donc de dire qu' aux stades considérés le mésenchyme n'exerce aucune influence de type inducteur; tous les mésenchymes utilisés sont de type "permissif ". Toutefois, de ce point de vue, les mésenchymes ne sont pas tous équivalents: les mésenchymes dorsaux (céphalique et somitique) favorisent moins le développement de vésicules épithéliales que le mésenchyme de membre ou que les mésenchymes ventraux (somatopleure, gésier, ventricule succenturié et poumon). Les mésenchymes denses (gésier, ventricule succenturié) peuvent limiter la prolifération du tissu adénohypophysaire et provoquer son morcellement, qui paraît dû à la fois à leur structure et au fait qu'ils favorisent la formation de vésicules importantes.

En ce qui concerne la différenciation des types cellulaires, elle est le plus souvent liée au développement général du tissu. Les cellules chromophiles sont d'autant plus nombreuses et bien différenciées que l'ébauche a pu proliférer et à cet égard les mésenchymes de gésier et de ventricule succenturié apparaissent les moins favorables. Il faut remarquer que ces deux mésenchymes splachniques ont été prélevés chez des embryons de 6 jours, à un stade où ils ont acquis une certaine différenciation qui peut nuire à leurs qualités de "support" quand ils sont associés à l'ébauche adénohypophysaire. Rappelons, à cet effet, que N. LE DOUARIN (1967) a montré que le mésenchyme de gésier, associé à l'endoderme pharyngien, ne permet que l'expression de potentialités qui lui sont homologues. Il est à souligner que, si nous avons observé une variation du nombre des cellules chromophiles, nous n'avons pas observé de sélection dans les catégories cellulaires en fonction du mésenchyme support. DIETERLEN-LIEVRE(1970) a obtenu des résultats comparables dans le cas du pancréas: le bourgeon dorsal associé à divers mésenchymes hétérologues de type "permissif" donne naissance à des grandes plages endocrines et à du parenchyme exocrine, tandis que les bourgeons pancréa-

tiques ventraux donnent essentiellement du tissu exocrine, au sein duquel on trouve des flots de tissu endocrine rares et de petite taille. Cette évolution ne diffère donc pas de façon importante de l'évolution qui a lieu in situ.

Il apparaît ainsi que, comme celà est le cas in situ pour le mésenchyme péri-hypophysaire (ASSENMACHER, 1952), le rôle essentiel du mésenchyme support est d'apporter la vascularisation indispensable à la différenciation de l'ébauche adénohypophysaire. A cet égard, les mésenchymes denses sont peu vascularisés, les sinusoides sanguins sont peu développés et l'irrigation de l'ébauche épithéliale qui leur est associée est, de ce fait, également très réduite, ce qui peut influencer sur la prolifération et la différenciation des cellules adénohypophysaires.

Le développement et la différenciation de l'ébauche adénohypophysaire dépendent donc, en premier lieu, de la structure du mésenchyme support et nous avons pu d'ailleurs montrer que, dans le cas des mésenchymes d'origine axiale, l'âge du mésenchyme support choisi n'intervenait que dans la mesure où la structure du mésenchyme avait varié. Le mésenchyme prélevé chez des embryons de moins de 3 jours ou chez des embryons de 5 ou 6 jours s'avère moins favorable que celui prélevé chez des embryons de 3 jours et demi ou 4 jours. Toutefois, si les qualités physiques du mésenchyme support sont essentielles, sa nature biochimique n'est pas sans importance. En effet, les mésenchymes ventraux de type digestif (ventricule succenturié, gésier) ne font pas que favoriser le développement de vésicules, ils induisent, à partir de l'épithélium adénohypophysaire, la formation de véritables structures digestives. Si la formation de vésicules à paroi mince peut être considérée comme une évolution normale du tissu adénohypophysaire dans la mesure où elle est retrouvée à des degrés divers au cours de la vie embryonnaire ou chez l'adulte, il n'en est pas de même pour ces structures de type digestif.

Les expériences comportant des greffes chorio-allantoïdiennes ont confirmé ce rôle du mésenchyme. En effet, le mésenchyme chorio-allantoïdien possède les qualités que nous avons précédemment évoquées. C'est un mésenchyme

particulièrement lâche qui favorise donc la prolifération de l'épithélium de la poche de Rathke. Ce mésenchyme peut être qualifié de "neutre"; il est, en effet, destiné à régresser à la fin de l'incubation, contrairement aux autres mésenchymes support que nous avons utilisés et il n'induit pas la différenciation de structures particulières. Il est enfin le siège d'une vascularisation importante qui, au moment de la greffe le 6e ou le 7e jour de l'incubation, se développe de façon active, ce qui contribue, avec la prolifération des cordons hypophysaires, à l'établissement rapide d'une vascularisation très développée. On est, de ce fait, amené à considérer que l'évolution des cellules adénohypophysaires peut être influencée par certains mésenchymes supports. C'est plus particulièrement le cas pour le mésenchyme de gésier et de ventricule succenturié qui, comme nous l'avons précédemment souligné, sont prélevés à un stade auquel ils sont déjà différenciés.

Le mésenchyme chorio-allantoïdien s'est avéré être le meilleur support en ce qui concerne la différenciation des types cellulaires. Il faut souligner que l'évolution de l'ébauche adénohypophysaire obtenue en greffe chorio-allantoïdienne constitue une exception. En effet, des ébauches épithéliales variées: uretère (BISHOP-CALAME, 1966), bourgeon pulmonaire (DAMERON, 1968), bourgeons hépatique et thyroïdien (N. LE DOUARIN, 1969) notamment, peuvent survivre, mais n'évoluent pas dans ces conditions. Il est d'ailleurs remarquable que le tissu adénohypophysaire formé dans la chorio-allantoïde soit souvent dépourvu de tout kyste ou de toute vésicule. Ainsi, non seulement le mésenchyme chorio-allantoïdien ne favorise pas la formation de telles structures, comme celà est le cas pour la plupart des autres mésenchymes hétérologues utilisés, mais ce mésenchyme ne permet pas non plus la formation des vésicules qui accompagnent souvent l'adénohypophyse ayant évolué in situ. Rappelons, à ce sujet, que les gouttelettes de colloïde qui peuvent apparaître dans les pseudo-acini du lobe caudal in situ, se forment et parfois en grand nombre, dans le lobe caudal prélevé vers la fin de l'incubation et greffé dans la chorio-allantoïde. Toutefois, ces gouttelettes de colloïde sont localisées au milieu des cordons cellulaires, car on ne retrouve pas la structure pseudo-acineuse du lobe caudal.

En ce qui concerne la localisation des types cellulaires, il ne nous est pas apparu de différences en fonction de la nature du mésenchyme support utilisé; il faut toutefois signaler que, parmi les cellules APS positives, celles qui réagissent en outre au bleu alcian, sont dans l'ensemble situées à la périphérie du greffon. Cette localisation est d'ailleurs la leur dans l'adénohypophyse évoluant in situ et l'on ne peut, de ce fait, envisager une influence éventuelle de la nature du mésenchyme support.

Une intervention du mésenchyme dans la différenciation des types cellulaires de l'adénohypophyse du fœtus humain a été invoquée par CONKLIN (1968). Pour cet auteur, le fait que plusieurs types cellulaires se différencient lors de l'entrée en contact des cordons cellulaires avec le mésenchyme suggère que cette différenciation serait la conséquence d'une action exercée par le mésenchyme. SCHECHTER (1971), dans une étude de la différenciation de l'adénohypophyse du fœtus de lapin, effectuée en microscopie électronique, envisage également que les cellules mésenchymateuses puissent jouer un rôle dans la différenciation de plusieurs types cellulaires (cellules thyroïdiques, gonadotropes et "stellate cells"). SCHECHTER a, en effet, constaté que, si la différenciation de ces types cellulaires coïncide avec l'établissement de la vascularisation, elle précède sensiblement la mise en place du système porte. Nos résultats ne sont pas en accord avec ce rôle attribué au mésenchyme homologue. En effet, ces auteurs considèrent que le mésenchyme pourrait intervenir dans la différenciation des types cellulaires à des stades relativement tardifs (apparition de la chromophilie ou des granulations spécifiques), alors que, chez l'embryon de poulet, cette différenciation peut avoir lieu quand l'ébauche est séparée, dès le stade de 25 somites, du mésenchyme homologue, alors que la différenciation des premiers types cellulaires n'intervient pas avant le 6^e jour de l'incubation. Les expériences que nous avons effectuées chez la Souris et que nous avons résumées précédemment (FERRAND et NANOT, 1968) confirment d'ailleurs que chez les Mammifères, comme chez les Oiseaux, la différenciation des types cellulaires est la conséquence d'une induction précoce exercée par le plancher encéphalique. L'intervention du mésenchyme apparaît comme indirecte dans la mesure où il conditionne la vascularisation.

5.) Le rôle de la vascularisation.

Le rôle de la vascularisation dans la différenciation des types cellulaires de l'adénohypophyse, aussi bien chez les Vertébrés adultes que chez l'embryon ou le fœtus, a retenu l'attention de plusieurs auteurs et fait l'objet de discussions (GRIGNON, 1963).

Les expériences de PASTEELS (1960) sur le Pleurodèle adulte, consistant à faire subir une rotation de 180° à l'hypophyse, ont montré que la topographie cellulaire était inversée de 180° après le rétablissement des connexions vasculaires et que la localisation des cellules gamma semble être particulièrement dépendante des vaisseaux sanguins. DIERICKS (1963) signale chez la Grenouille une relation étroite entre l'activité des cellules APS positives et leur position sur le trajet des vaisseaux adénohypophysaires. VAN OORDT (1963) dans une discussion sur ce sujet envisage que, chez les Batraciens, la vascularisation intervienne dans la différenciation des types cellulaires. GRIGNON (1963) indique que, chez les Reptiles, "il existe effectivement des cellules très chromophiles sur le trajet initial, dans l'adénohypophyse, des capillaires issus des vaisseaux portes ; en particulier, on observe dans cette région antérieure de la glande des cellules gamma".

L'étude du lobe glandulaire de l'hypophyse de la Tortue terrestre conduit HERLANT et GRIGNON (1961) à écrire au sujet de la vascularisation que "selon toute vraisemblance, elle conditionne la différenciation des éléments cellulaires et leur activité". Pour ces auteurs, la bipartition zonale des différentes formes cellulaires au niveau du lobe distal est en rapport avec les modalités de son irrigation.

Chez l'embryon de poulet, les travaux de GRIGNON (1956, 1957) ont montré qu'il existait un parallélisme remarquable entre la mise en place de la vascularisation et la différenciation des types cellulaires de l'adénohypophyse. Des observations comparables ont également été rapportées dans le cas de l'adénohypophyse (THOMMES, 1959), de la thyroïde (THOMMES et RUSSO, 1958) et de la surrénale (WILLIER, 1955).

ASSENMACHER (1963) dans la discussion à laquelle nous nous sommes référé (GRIGNON, 1963) pose le problème de savoir si l'intervention de la vascularisation porte est d'ordre quantitatif ou qualitatif. En ce qui concerne le rôle qualitatif il faut remarquer que, in situ, la distribution vasculaire peut bien évidemment intervenir dans la topographie cellulaire par l'intermédiaire de "releasing factors", une telle intervention a été envisagée par RACADOT (1963). Cet aspect qualitatif a également été considéré par RACADOT (1963) indépendamment du rôle de vecteur des "releasing factors" assuré par le sang des vaisseaux portes. Selon cet auteur, les conditions d'activité des cellules glandulaires, échelonnées le long d'un parcours vasculaire, sont différentes pour celles qui sont situées près du point de pénétration des vaisseaux portes et pour celles qui sont situées en aval. RACADOT écrit à ce sujet : "la tension d'oxygène, la présence en concentration différente dans le sang de produits autochtones, doivent constituer des facteurs locaux de la régulation fonctionnelle".

Nous avons obtenu la différenciation de tissu adénohypophysaire non seulement en l'absence de tout contact avec l'hypothalamus mais également chez des embryons privés d'hypothalamus et d'hypophyse par décapitation ce qui permet d'exclure une intervention du sang en tant que transporteur de facteurs hypothalamiques et de ne considérer que son rôle trophique. Nous ne pouvons apporter aucune précision sur les différences qualitatives susceptibles d'exister entre le sang circulant dans l'adénohypophyse évoluant in situ et le sang qui irrigue le tissu adénohypophysaire des greffons formés en greffe coelomique ou en greffe chorio-allantoïdienne. Par contre, l'étude des différents types de greffons obtenus selon la nature du mésenchyme support utilisé nous a permis de constater, comme nous l'avons indiqué précédemment, qu'il y avait une relation entre la différenciation des types cellulaires et l'abondance de la vascularisation. Les conditions réunies par le mésenchyme chorio-allantoïdien et qui font que tous les cordons de parenchyme adénohypophysaire sont en contact étroit avec des sinusoides sanguins, conviennent parfaitement à la prolifération et à la différenciation des cellules de l'adénohypophyse. La différenciation des cellules APS positives est particulièrement favorisée puisque ces cellules apparaissent dans la totalité du greffon alors que, dans l'adénohypophyse évoluant in situ, ou dans le tissu formé

en greffe coelomique à partir de la poche de Rathke associée à divers mésenchymes, ces cellules sont presque exclusivement localisées au niveau du lobe céphalique ou des zones dérivant du segment céphalique. La comparaison de l'évolution en greffe coelomique de greffons constitués par l'association de la poche de Rathke (ou de l'un de ses segments) à du mésenchyme céphalique avec l'évolution de la poche de Rathke greffée dans la chorio-allantoïde, nous a permis de constater que l'irrigation assurée par la greffe chorio-allantoïdienne favorise la différenciation des cellules APS et bleu alcian positives. La localisation de ces cellules au contact des sinusoides sanguins, a été souvent observée.

L'origine des cellules APS positives différenciées dans la totalité du greffon ayant évolué en greffe chorio-allantoïdienne a pu être démontrée grâce à la constitution d'explants comportant soit uniquement des segments caudaux de poche de Rathke de Poulet soit un segment caudal de poche de Rathke de Poulet et un segment céphalique de poche de Rathke de Caille. Dans les deux types de greffons, des cellules APS positives se sont différenciées à partir du segment caudal de la poche de Rathke de Poulet. Les greffons constitués par des associations interspécifiques montrent qu'il n'y a pas de mélange des cordons cellulaires issus du lobe céphalique avec les cordons cellulaires issus du lobe caudal.

Ainsi, non seulement les conditions de la greffe chorio-allantoïdienne parmi lesquelles la vascularisation est déterminante, sont particulièrement favorables à la différenciation des cellules APS positives dans le lobe céphalique, mais elles permettent leur différenciation dans le lobe caudal.

En ce qui concerne l'origine de ces cellules APS positives deux hypothèses peuvent a priori être avancées. Elles pourraient provenir des nombreuses cellules chromophobes du lobe caudal, cellules qui seraient encore à l'état indifférencié. Une telle hypothèse ne peut pas être formellement rejetée. En effet les expériences effectuées chez le Canard adulte, consistant à pratiquer une autogreffe d'adénohypophyse sous la capsule rénale, ont permis à TIXIER-VIDAL et coll. (1965) d'observer un remaniement important du greffon qui aboutit à une localisation des types cellulaires qui n'a rien de commun avec celle qui est observée

in situ. Ces auteurs ont été conduits à envisager l'existence soit de migrations cellulaires soit de redifférenciations cellulaires. Dans le cas de nos expériences la migration cellulaire ne peut être envisagée, nous avons en effet vu que la technique de "marquage biologique" utilisée montrait qu'il n'y avait pas de mélange des cellules de Caille et des cellules de Poulet.

Une deuxième hypothèse peut être formulée au sujet de l'origine des cellules APS positives qui se différencient à partir du segment caudal en greffe chorio-allantoïdienne. La différenciation de ces cellules serait simplement favorisée et ces cellules, précocement déterminées, seraient les mêmes que celles qui se différencient après l'éclosion.

Il paraît difficile de considérer "l'état chromophile", tel qu'il existe pour de nombreuses cellules de l'adénohypophyse embryonnaire ou tel qu'il peut réapparaître après un "état chromophile" chez l'adulte, comme la persistance d'un état indifférencié ou le retour à un tel état dans le cas des cellules de l'adénohypophyse de l'adulte. Cette possibilité d'un retour à l'état indifférencié pour les cellules adénohypophysaires, défendue par ROMEIS (1940), a fait l'objet de nombreuses discussions et nous n'avons pas d'argument qui nous permette d'intervenir dans ce débat. Nous avons vu précédemment que le fait que certaines cellules adénohypophysaires puissent, dans différentes conditions, évoluer pour constituer des vésicules n'est pas incompatible avec leur appartenance à une catégorie cellulaire déterminée même si cette appartenance ne se traduit pas par des différences cytologiques décelables.

Le fait que les conditions de la greffe chorio-allantoïdienne influent sur la différenciation de la poche de Rathke est confirmé par l'étude des activités cholinestérasiques manifestées par le tissu adénohypophysaire formé dans ces conditions. Les activités cholinestérasiques sont plus importantes au niveau du lobe céphalique qu'au niveau du lobe caudal dans l'adénohypophyse différenciée in situ ; il n'en est pas de même pour le tissu formé en greffe. Dans ce cas en effet, les activités cholinestérasiques sont à la fois plus homogènes et comparables en intensité à celles du lobe céphalique. Cette observation suggère que ces

activités sont liées au fait que les cellules APS positives se différencient dans la totalité du greffon ce qui ne permet plus de distinguer à cet égard le lobe céphalique du lobe caudal. Il faut remarquer d'ailleurs que la différence d'activité manifestée par les lobes de l'ébauche adénohypophysaire est apparente au moins dès le stade de 5 jours d'incubation c'est-à-dire avant que les types cellulaires ne puissent être mis en évidence. La manifestation précoce de l'activité enzymatique et le fait qu'elle soit plus intense au niveau du lobe céphalique où se différencieront les premiers types cellulaires, montrent que dès le stade de 5 jours il existe des différences entre les cellules. L'apparition précoce des activités cholinestérasiques et les variations de ces activités au cours des premiers jours de l'incubation rapportées par plusieurs auteurs (ZACKS, 1954 ; DREWS et coll., 1967, 1969 ; USADEL et coll., 1967), suggèrent que les cholinestérases sont étroitement associées aux processus de différenciation.

Les résultats de nos expériences fournissent donc un argument en faveur de la thèse de GRIGNON (1956, 1957) selon laquelle la mise en place de la vascularisation et la différenciation des types cellulaires ne sont pas simplement des processus parallèles mais qu'ils sont liés. L'établissement plus précoce de la vascularisation au niveau du lobe céphalique explique la différenciation plus rapide des types cellulaires. Le fait que, aussi bien in situ, que dans le cas du tissu adénohypophysaire formé en greffe, les premiers types cellulaires apparaissent dans la zone périphérique trouve également une explication dans les contacts avec les vaisseaux sanguins qui sont plus précoces dans cette zone. L'intervention du mésenchyme dans la différenciation des types cellulaires évoquée par CONKLIN (1968) et SCHECHTER (1971) est en fait une intervention de la vascularisation : la prolifération des cordons cellulaires de l'adénohypophyse les amène simultanément à entrer en contact avec le mésenchyme et avec les capillaires sanguins comme l'ont montré les études d'ASSENMACHER chez l'embryon de Canard (1952).

La différenciation de tissu adénohypophysaire, obtenue chez des embryons décapités, permet par ailleurs de répondre à la question posée par GRIGNON (1956, 1957) et par LENYS (1962) et qui est de savoir si le sang "n'agit

qu'en améliorant les conditions métaboliques ou s'il apporte déjà des principes différenciateurs originaires de l'hypothalamus" (LENYS, 1962). Après le stade de l'induction et jusqu'à un stade avancé du développement embryonnaire, la différenciation des types cellulaires est indépendante de l'hypothalamus. Les conditions métaboliques, déterminées par la vascularisation, revêtent par contre une importance essentielle.

III. La différenciation cytologique et fonctionnelle de l'adénohypophyse et les rapports hypothalamo-hypophysaires.

L'hypophysectomie par décapitation provoque chez l'embryon de poulet un certain nombre de troubles. La correction partielle ou totale de certains d'entr'eux par le tissu adénohypophysaire différencié en greffe permet de penser qu'il doit sécréter plusieurs hormones. En effet, le rétablissement du taux de survie et la stimulation de la croissance des embryons hypophysectomisés traduisent vraisemblablement des influences hormonales synergiques. Le problème se pose donc de savoir quelles hormones sont mises en jeu, quelles sont les catégories cellulaires qui les sécrètent et enfin quelles sont les conclusions que l'on peut tirer de nos observations en ce qui concerne les rapports hypothalamo-hypophysaires au cours de la vie embryonnaire.

1.) Activité physiologique manifestée par le tissu adénohypophysaire différencié en greffe.

Les observations effectuées chez les différents embryons (témoins, décapités, décapités et greffés) permettent de conclure que la greffe de poches de Rathke prélevées à des stades compris entre 3 et 5 jours d'incubation et greffées dans la chorio-allantoïde d'embryons préalablement décapités exerce diverses influences sur ces embryons, notamment sur le taux de survie et la croissance générale. Cette influence peut être directe ou s'effectuer par l'intermédiaire d'autres glandes endocrines. Le fait que le taux de survie et le poids corporel des embryons décapités et greffés soient significativement augmentés par rapport à ceux des embryons décapités permet de penser que le tissu adénohypophysaire intervient en sécrétant de l'hormone somatotrope et également de l'hormone thyroïdienne.

Les injections de TSH (WOODSIDE, 1937; ARON, 1939) sont, comme les injections de thyroxine (VIDAL, 1953; TIXIER-VIDAL, 1958), suivies d'une stimulation du métabolisme (BEYER, 1952; PORTET, 1960), d'une accélération du développement et d'une éclosion précoce. Il en est de même dans le cas

de la greffe de thyroïdes (WILLIER, 1924). Il est possible de conclure, dans le cas de nos expériences, à la présence de TSH, à la fois dans le tissu adénohypophysaire différencié en greffe coelomique chez des embryons entiers et en greffe chorio-allantoïdienne chez des embryons décapités étant donné le rôle joué par les greffons dans les processus de croissance. Les effets de la décapitation sur la rétraction du vitellus et sur l'évolution de la vascularisation chorio-allantoïdienne sont liés au ralentissement du développement de l'embryon et à l'absence de STH et de TSH. L'apport de ces hormones par le ou les greffons rétablit au moins partiellement la rétraction du jaune et l'évolution de la vascularisation chorio-allantoïdienne parallèlement à la stimulation de la croissance. Il est à remarquer que la prolactine peut avoir des actions comparables à celles de STH. Elle stimule fortement la croissance des têtards entiers (ENEMAR et coll., 1968) et entraîne un véritable gigantisme des têtards hypophysectomisés (REMY, 1969). Cette hormone intervient également dans la croissance chez les Reptiles (LICHT et HOYER, 1968), chez les Oiseaux (BATES et coll., 1962; BERN et NICOLL, 1969; GOURDJI et TIXIER-VIDAL, 1969) et les Mammifères (BATES et coll., 1964). Cette action de la prolactine suggère qu'elle puisse intervenir dans le développement de l'embryon de poulet. L'adénohypophyse du Canard, soustraite à la commande hypothalamique, comme cela est le cas pour les greffons chorio-allantoïdiens, montre une persistance de l'activité des cellules à prolactine (ASSENMACHER et TIXIER-VIDAL, 1962; TIXIER-VIDAL et GOURDJI, 1965; TIXIER-VIDAL et coll., 1965). Toutefois, la fonction prolactinique ne manifeste pas cette indépendance chez la Caille et chez le Pigeon, Oiseaux chez lesquels elle est soumise à un contrôle hypothalamique stimulant très strict (BAYLE, 1968; TIXIER-VIDAL, 1970). Les travaux de PASTEELS (1963) ont également montré que la sécrétion de prolactine est "une activité autonome de la glande" et que, comme dans le cas de l'adénohypophyse de l'adulte, l'adénohypophyse foetale humaine cultivée in vitro présente de nombreuses cellules érythrosinophiles sécrétant de la prolactine.

La minceur de la peau, la rareté et le ralentissement de la croissance du duvet chez les embryons décapités peuvent également être rapportés

à un déficit en thyroxine (BARTELS, 1944; JOHNSON, 1968) consécutif à l'absence de TSH. Toutefois il ne s'agit pas là de caractères parfaitement constants chez les embryons décapités, comme le sont la diminution du taux de survie, du poids corporel et l'hypotrophie de la thyroïde. La greffe de poches de Rathke ne rétablit pas toujours d'ailleurs une évolution normale du duvet et de la peau chez les embryons décapités. Les processus de kératinisation pourraient également dépendre de l'hydrocortisone (SUGIMOTO et ENDO, 1969).

Le développement subnormal de la thyroïde observé chez les embryons décapités et greffés peut être attribué à la sécrétion de TSH. En effet, on peut invoquer une action de STH ou de la prolactine sur la croissance de ces embryons, cette stimulation de la croissance étant accompagnée d'une différenciation plus avancée de la thyroïde et de la production de colloïde. Mais cette hypothèse se heurte à plusieurs objections: la première c'est que la thyroïde des embryons décapités présente le même aspect d'hypotrophie à 19 jours qu'à 17 jours, bien que les embryons se soient développés; la deuxième objection est que les expériences effectuées in vitro montrent que l'adénohypophyse stimule la production de colloïde des ébauches thyroïdiennes au cours de cultures qui n'excèdent pas 48 h.; de plus, les injections de TSH pratiquées par MESS et STRAZNICKY (1964) exercent une stimulation telle sur les cellules thyroïdiennes qu'elles atteignent en 24 heures une activité comparable à celle des embryons entiers.

Le nombre de greffons ne paraît pas intervenir dans l'influence exercée sur la différenciation de la thyroïde. Les histogrammes de fréquence des diamètres de follicules obtenus à 19 jours ne permettent de déceler aucune différence notable à cet égard entre les embryons témoins et les embryons décapités, qu'ils soient porteurs d'un seul ou de deux greffons. Ce résultat, qui est en accord avec celui de BRASCH et BETZ (1971), suggère l'existence d'une régulation de la production de TSH par les greffons. Cette éventualité n'est toutefois pas en accord avec le fait que la greffe d'adénohypophyses surnuméraires, chez

l'embryon entier, provoque une stimulation de la thyroïde (STUDITSKII, 1946; TIXIER-VIDAL, 1958).

Si les effets de la décapitation sur la différenciation de la thyroïde, que nous avons observés, sont en accord avec ceux qui ont été obtenus par la plupart des auteurs (FUGO et WITSCHI, 1938; FUGO, 1940; MARTINDALE, 1941; THOMMES, 1958; BETZ, 1967; BRASCH et BETZ, 1971), il n'en est pas de même en ce qui concerne le développement de la surrénale. WOLFF et STOLL (1937), ainsi que FUGO (1940) n'observent aucune modification de la structure histologique de cette glande après la décapitation. Par contre, selon CASE (1952), BETZ (1967), BRASCH et BETZ (1971), le poids de la surrénale est affecté, ainsi que le développement des cordons corticaux. Nous avons vu précédemment que les décapitations tardives pratiquées par ADJOVI et IDELMAN (1969) et ADJOVI (1970) ont montré que les effets de la décapitation sur la charge en cholestérol et en lipides dépendraient à la fois du stade auquel la décapitation était pratiquée et également du délai écoulé après la décapitation, une récupération partielle ou même totale de la charge en cholestérol et en lipides pouvant intervenir. Pour ADJOVI ce serait là une manifestation d'une certaine autonomie de la surrénale vis-à-vis de l'adénohypophyse.

En ce qui concerne l'acide ascorbique surrénalien, il est admis, d'une façon générale, que l'ACTH abaisse son taux (EVANS et coll., 1966). Les expériences effectuées chez les Oiseaux ont abouti à des résultats très variables par rapport à ceux qui sont obtenus chez les Mammifères. La décapitation pratiquée chez le fœtus de rat par COHEN (1958) provoque une diminution du taux d'acide ascorbique. Les injections d'ACTH n'entraînent aucune déplétion de l'acide ascorbique chez le Poulet (BATES et coll., 1940; JAILER et BOAS, 1950; ELTON et coll., 1959; PEREK et coll., 1959), ni chez le Canard (ZARROW et ZARROW, 1950), ni chez la Caille (ZARROW et BALDINI, 1952); par contre, cette déplétion a lieu chez la Poule adulte (PEREK et coll., 1959). L'action de l'ACTH sur l'acide ascorbique surrénalien varierait donc en fonction de l'âge. Selon NEWCOMER (1959), l'hypophysectomie n'affecte ni le poids des surrénales, ni le taux d'acide ascorbique surrénalien chez le Poulet; pour cet auteur, le

tissu cortical manifeste une grande indépendance vis-à-vis de l'adénohypophyse. Pour MA et NALBANDOV (1963) le taux d'acide ascorbique est accru après l'hypophysectomie et se normalise 20 jours après l'opération. Chez le Canard, le taux d'acide ascorbique est diminué, mais de façon non significative (BOISSIN, 1967).

Il faut remarquer que chez le Poulet l'atrophie surrénalienne peut être peu importante ou inexistante après hypophysectomie (NEWCOMER, 1959) ou se développer tardivement (MA et NALBANDOV, 1963), alors que chez les autres espèces, le Canard notamment, l'abaissement du poids de la surrénale est constant après hypophysectomie (ASSENMACHER, 1958; BOISSIN, 1967). Sur le plan histologique, une différence importante a été signalée par MA et NALBANDOV (1963): le rapport tissu cortical / tissu médullaire est augmenté, alors que, chez les autres espèces, ce rapport est diminué par suite de l'involution relative du tissu cortical. Les observations que nous avons effectuées chez l'embryon sont beaucoup plus en accord avec les résultats de MA et NALBANDOV (1963) obtenus chez le Poulet, qu'avec les observations de CASE (1952) et de BETZ (1967) réalisées chez l'embryon. L'hypertrophie des cordons corticaux chez les embryons hypophysectomisés fait que le rapport tissu cortical / tissu médullaire n'est pas abaissé, comme l'indiquent CASE (1952) et BETZ (1967). Dans un travail récent, effectué en collaboration avec BRASCH (1971), BETZ ne mentionne pas, chez les embryons hypophysectomisés, une diminution de l'importance relative du tissu cortical par rapport au tissu médullaire, mais simplement une diminution du nombre des cordons corticaux accompagnée d'une hypertrophie. Les photographies fournies par BRASCH et BETZ (1971) semblent bien indiquer qu'ils ont fait une erreur d'interprétation conduisant à une confusion entre les deux tissus, cortical et médullaire.

Nous avons indiqué que les différences entre la surrénale des embryons témoins et la surrénale des embryons hypophysectomisés ne sont pas très marquées. Elles résident dans l'hypertrophie des cordons corticaux, mais la surrénale des embryons hypophysectomisés présente des variations de structure non seulement selon les embryons, mais également selon les régions de la surrénale. Il

faut remarquer à cet égard que différents auteurs, notamment TIXIER-VIDAL et ASSENMACHER (1963), DE ROOS (1963), FRANKEL et coll. (1967) ont distingué plusieurs zones dans le tissu cortical de la surrénale des Oiseaux. Les différentes zones sont plus ou moins affectées par les conditions expérimentales. Les cordons périphériques sous-capsulaires sont nettement activés par l'injection de métopirone chez le Canard (TIXIER-VIDAL et ASSENMACHER, 1963). Au cours d'expériences effectuées chez le Poulet, FRANKEL et coll. (1967) mettent en rapport une augmentation de la corticostéronémie plasmatique avec une augmentation de l'activité des cellules corticales situées dans une zone moyenne comprise entre les cordons sous-capsulaires et le centre de la glande. L'existence de ces différentes zones, dans le tissu cortical, est à rapprocher des observations que nous avons effectuées chez l'embryon et qui montrent que l'hypophysectomie n'affecte pas tous les cordons corticaux, certains étant hypertrophiés, d'autres conservant un aspect normal.

L'hypophysectomie par décapitation pratiquée chez l'embryon de poulet ne nous permet pas de confirmer la déplétion du taux d'acide ascorbique signalée par CASE (1952), ni l'involution du tissu cortical signalée par CASE (1952) et par BETZ (1967). Dans ces conditions, il ne nous est pas possible de préciser si le tissu adénohypophysaire différencié en greffe chorio-allantoïdienne exerce ou non une influence sur la surrénale des embryons décapités qui, en tout état de cause, n'est pas affectée de façon nette par la décapitation et manifeste, au contraire, une importante autonomie vis-à-vis de l'adénohypophyse. Si nos résultats ne nous permettent pas d'exclure complètement un rôle de l'ACTH dans la différenciation de la surrénale, les conclusions de BETZ (1967) et de BRASCH et BETZ (1971), aussi bien en ce qui concerne l'effet de la décapitation que la sécrétion d'ACTH par les greffons chorio-allantoïdiens, ne nous paraissent pas devoir être considérées comme définitives.

2.) Différenciation fonctionnelle et types cellulaires.

Le tissu adénohypophysaire différencié in situ ou en greffe à partir de la poche de Rathke montre les mêmes catégories cellulaires. Dans la mesure où

chacun de ces tissus exerce une action soit sur le développement général de l'embryon, soit sur d'autres glandes endocrines, le problème se pose de savoir à quels types cellulaires les différentes activités physiologiques peuvent être rapportées.

Chez l'embryon d'Oiseau des corrélations précises entre l'activité fonctionnelle et la cytologie adénohypophysaire n'ont que rarement été établies, sauf en ce qui concerne les cellules APS positives, qui perdent "leurs caractéristiques de forte activité" peu avant l'éclosion et qui se montrent sensibles à l'injection de thyroxine ou d'antithyroïdiens (TIXIER-VIDAL, 1958). Le fait que la chromophilie des cellules adénohypophysaires ne varie pas ou très peu (sauf en ce qui concerne les seules cellules thyroïotropes), ne signifie pas que ces cellules ne produisent aucune hormone. En effet, PETROVIC (1961) a montré que, si les cellules de fragments de préhypophyse de Cobaye ou de Rat adultes perdent en culture leurs granulations chromophiles, elles peuvent toutefois conserver certaines de leurs potentialités fonctionnelles. TIXIER-VIDAL (1970) distingue dans l'adénohypophyse d'Oiseaux adultes (Canard, Caille, Pigeon) soustraite à l'influence du contrôle hypothalamique, plusieurs catégories de cellules plus ou moins affectées par la déconnexion hypothalamique, certaines pouvant assurer une activité de synthèse et d'excrétion, bien que leur stock de granulations demeure faible (cellules thyroïotropes et corticotropes).

Les travaux de GRIGNON (1956) ont permis à cet auteur d'associer, à titre d'hypothèse, les types cellulaires de l'adénohypophyse embryonnaire de Poulet à certaines fonctions hormonales. Ces hypothèses sont basées sur des rapprochements entre diverses observations et notamment sur le fait que la différenciation des types cellulaires coïncide avec les premiers signes de fonctionnement des glandes cibles. Nous avons déjà donné des précisions à ce sujet (2ème partie, A, II).

Depuis les travaux de GRIGNON (1956) et de TIXIER-VIDAL (1958) les données concernant les relations entre les types cellulaires et l'activité fonctionnelle de l'adénohypophyse embryonnaire ont été peu nombreuses; par contre, chez l'adulte, 6 ou même 7 types cellulaires ont été mis en évidence et la comparaison de la cytologie de l'adénohypophyse embryonnaire et celle de l'adénohypophyse adulte est intéressante à cet égard.

Les cellules cyanophiles céphaliques, qui réagissent également à l'APS chez l'embryon, correspondent aux cellules thyroïdiques et aux cellules gonadotropes. Pour GRIGNON (1956) les grosses cellules du bord ventral, qui se différencient vers le 14^e jour de l'incubation, pourraient être des cellules gonadotropes. MOSZKOWSKA (1949, 1956) a, en effet, mis en évidence une activité gonadotrope dans le lobe céphalique et WOODS et WEEKS (1969) ont montré que l'hypophysectomie pouvait affecter certaines enzymes des gonades. Toutefois, nous avons vu que ces cellules se colorent par le bleu alcian quand il est utilisé en association avec l'APS, ce qui les rapprocherait plutôt des cellules thyroïdiques, si l'on se réfère aux affinités tinctoriales manifestées par les cellules gonadotropes et thyroïdiques de l'Oiseau adulte. Les expériences de TIXIER-VIDAL (1958) ont d'ailleurs montré que les grosses cellules APS positives du bord antéro-ventral étaient sensibles aux injections d'antithyroïdiens et de thyroxine et pour cet auteur ces cellules seraient responsables de la sécrétion d'hormone thyroïdique et non pas de la sécrétion d'hormone gonadotrope, comme l'a envisagé GRIGNON (1956). Les activités cholinestérasiques, que nous avons mises en évidence dans l'adénohypophyse différenciée in situ ou en greffe chorio-allantoïdienne, montrent une intensité variant parallèlement avec le nombre et la différenciation des cellules APS positives. Ces activités sont, en effet, plus fortes au niveau du lobe céphalique où les cellules APS positives sont nombreuses, qu'au niveau du lobe caudal où elles sont très rares ou absentes. D'autre part, ces activités sont importantes dans le tissu adénohypophysaire différencié en greffe chorio-allantoïdienne, dont les conditions favorisent la différenciation des cellules APS positives. Les activités cholinestérasiques non spécifiques seraient donc plus particulièrement liées aux cellules APS positives, c'est-à-dire aux cellules gonadotropes et thyroïdiques. Nous avons par ailleurs constaté, après action du DFP à la concentration 10^{-6} M, une persistance d'activité au niveau de la région antéro-ventrale du lobe céphalique où se situent les grosses cellules APS positives. Or, les travaux de RUSSELL (1968), RUSSELL et FARNER (1968), HAASE et FARNER (1969) effectués chez l'adulte de Zonotrichia leucophrys gambelii ont montré que les activités cholinestérasiques spécifiques étaient l'apanage des cellules gonadotropes.

Il serait utile de préciser si, chez l'embryon, les cellules thyroïdiques manifestent une activité cholinestérasique spécifique et si, au stade considéré, les cellules gonadotropes ne manifestent pas une telle activité.

En ce qui concerne les cellules "acidophiles céphaliques" A2, qui sont carminophiles à l'azan et érythrosinophiles au tétrachrome, plusieurs hypothèses sont à envisager; le fait que ces cellules se différencient précocement à partir du 6e jour de l'incubation à un stade où la surrenale montre des inclusions lipidiques, permet d'envisager qu'elles soient responsables de la sécrétion d'ACTH. Rappelons qu'une étude effectuée au microscope électronique a permis à GRIGNON et coll (1966) de distinguer, le 6e jour de l'incubation, deux catégories cellulaires dans le lobe céphalique. Ces auteurs ont mis en parallèle la présence de ces cellules et la mise en route des fonctions thyroïdique et corticotrope de l'adénohypophyse. Les études effectuées chez l'Oiseau adulte sont en accord sur la localisation des cellules à ACTH au niveau du lobe céphalique (MIKAMI, 1958, 1969; TIXIER-VIDAL, 1963; TIXIER-VIDAL et ASSENMACHER, 1966; TIXIER-VIDAL et coll., 1962, 1967, 1968; MIKAMI et coll., 1969).

Une autre possibilité est toutefois à considérer en ce qui concerne les cellules "acidophiles céphaliques" de l'adénohypophyse embryonnaire; en effet, chez l'adulte, les cellules à prolactine sont également localisées dans le lobe céphalique et, comme les cellules à ACTH, elles sont érythrosinophiles. De plus, si ces deux types cellulaires montrent une dualité fonctionnelle, leur dualité morphologique demeure discrète (TIXIER-VIDAL, 1963). L'influence que la prolactine peut exercer sur la croissance amène à envisager son existence chez l'embryon et à penser que les cellules "acidophiles céphaliques" pourraient correspondre aux cellules à ACTH et aux cellules à prolactine. D'ailleurs un argument vient appuyer cette hypothèse: la greffe de lobes céphaliques a permis à BETZ et BRASCH (1971) d'observer une stimulation de la croissance des embryons hypophysectomisés, qu'ils ont expliquée en attribuant une sécrétion de STH au lobe céphalique de l'adénohypophyse. Nous avons également constaté que le

tissu adénohypophysaire différencié en greffe chorio-allantoïdienne, à partir de plusieurs segments céphaliques de la poche de Rathke, stimule la croissance des embryons décapités porte-greffes. Le poids corporel de ces embryons diffère statistiquement de celui des embryons décapités contrôles. Il paraît vraisemblable de penser que l'activité de type STH, mise ainsi en évidence au niveau du lobe céphalique, puisse être due aux cellules à prolactine. En effet, chez l'adulte, la fonction somatotrope a été attribuée aux cellules acidophiles du lobe caudal (TIXIER-VIDAL, 1963; MIKAMI et coll., 1969; MATSUO et coll., 1969).

Ces cellules du lobe caudal de l'adénohypophyse des Oiseaux adultes semblent bien correspondre aux cellules orangeophiles A1 du lobe caudal de l'adénohypophyse de l'embryon, cellules qui se développent de façon importante après l'éclosion. Cette localisation au niveau du lobe caudal a d'ailleurs, dans le cas de l'embryon, été envisagée par ARONSSON (1952) et par GRIGNON (1956) et démontrée par ENEMAR (1967). Ce dernier auteur a obtenu une stimulation de la croissance de têtards de Rana temporaria en leur greffant le lobe caudal de l'adénohypophyse d'embryons âgés de 15 jours; le lobe céphalique n'exerce aucune action. ENEMAR précise également que dans cette espèce et au stade considéré, la prolactine n'exerce aucune action somatotrope. Ce résultat prouve donc l'existence d'une activité somatotrope dans le lobe caudal, sans exclure un rôle de la prolactine dans la croissance de l'embryon de poulet. Nous avons également constaté que le poids corporel moyen des embryons décapités, porteurs de greffons formés à partir de segments caudaux de poche de Rathke, était voisin de celui des embryons décapités et greffés de poches de Rathke entières. Le poids corporel des embryons décapités et greffés diffère statistiquement de celui des embryons contrôles non greffés.

Les cellules APS positives du lobe caudal demeurent très rares avant l'éclosion. La comparaison avec le lobe caudal de l'adénohypophyse de l'adulte permet, à priori, d'envisager que leur fonction soit de nature thyroïdienne ou gonadotrope. Rappelons que tous les auteurs ne sont pas d'accord en ce qui concerne

la localisation des cellules thyroïdiques. Pour MIKAMI (1958, 1969), MIKAMI et coll. (1969) et MATSUO et coll. (1969) les cellules thyroïdiques seraient purement céphaliques. Par contre, selon HERLANT et coll. (1960), TIXIER-VIDAL et coll. (1962), TIXIER-VIDAL (1963), TIXIER-VIDAL et ASSENMA-CHER (1966), les cellules thyroïdiques existeraient dans les deux lobes de l'adénohypophyse. En ce qui concerne l'embryon de poulet, TIXIER-VIDAL (1958) a démontré la nature thyroïdique des cellules APS positives (ou du moins de certaines d'entr'elles) différenciées dans le lobe céphalique, mais cet auteur n'a pas exclu, comme l'indiquent BRASCH et BETZ (1971) la possibilité de l'existence de telles cellules dans le lobe caudal. Dans leurs expériences de greffes chorio-allantoïdiennes de différentes parties de l'adénohypophyse de poussins de 1 jour chez des embryons décapités âgés de 10 jours, BRASCH et BETZ n'ont observé une stimulation du développement de la thyroïde que dans le cas de greffes du lobe céphalique ou de la région moyenne de l'adénohypophyse; le lobe caudal n'exerce aucune action. Nos résultats montrent, au contraire, que le tissu formé en greffe chorio-allantoïdienne à partir de lobes caudaux de la poche de Rathke, stimule la production de colloïde, qui est nettement plus abondante que dans la thyroïde des embryons décapités. Le diamètre moyen des follicules demeure toutefois inférieur à celui qui est observé chez les témoins ou chez les embryons ayant reçu en greffe soit des poches de Rathke entières, soit des segments céphaliques. Cette observation et le fait que le tissu formé à partir du segment caudal de la poche de Rathke en greffe chorio-allantoïdienne montre des cellules APS positives, suggèrent que ces cellules peuvent être responsables de l'activité thyroïdique. In situ, les cellules APS positives sont rares au niveau du lobe caudal avant l'éclosion et il en est de même chez le Poussin de 1 jour. Peut-être faut-il voir là l'explication de l'absence de stimulation de la thyroïde observée par BRASCH et BETZ.

Nous ne pouvons fournir aucune précision en ce qui concerne les cellules gonadotropes. Signalons toutefois qu'une activité LH, au niveau du lobe caudal, et une activité FSH, au niveau du lobe céphalique, ont été mises en

évidence par BRASCH et BETZ (1971). L'activité MSH manifestée par l'adénohypophyse embryonnaire (CHEN et coll., 1940; RAHN et DRAGER, 1941) n'a été, à notre connaissance, rapportée à aucun type cellulaire de l'adénohypophyse embryonnaire.

Il convient de souligner que les rapports que l'on peut établir entre les catégories cellulaires et la différenciation fonctionnelle de l'adénohypophyse de l'embryon de poulet sont basés essentiellement sur des arguments indirects et, qu'à ce titre, ils demeurent pour la plupart hypothétiques. Cet état de chose n'est pas particulier à l'adénohypophyse embryonnaire d'Oiseau. Ainsi l'antéhypophyse foetale humaine manifeste les mêmes activités que l'antéhypophyse de l'Homme adulte (LEVINA, 1968); toutefois, selon DUBOIS (1971), les rapports de ces activités avec les catégories cellulaires distinguées en fonction de leurs affinités tinctoriales ne sont pas clairement établis, sauf en ce qui concerne les cellules somatotropes.

3.) Les rapports hypothalamo-hypophysaires au cours de la vie ----- embryonnaire. -----

La différenciation cytologique de l'adénohypophyse peut s'effectuer indépendamment de l'hypothalamus dans la mesure où l'ébauche adénohypophysaire est prélevée après le stade de l'induction. Cette différenciation cytologique s'accompagne d'une différenciation fonctionnelle et on peut attribuer au greffon, à titre d'hypothèse, la sécrétion de STH, de TSH et peut-être de prolactine. Pour BRASCH et BETZ (1971) la sécrétion d'ACTH, de LH et de FSH pourrait également s'effectuer indépendamment de toute influence de l'hypothalamus. Il convient de souligner que les conditions de nos expériences permettent d'exclure tout contrôle hypothalamique s'exerçant à distance, comme cela a été envisagé par différents auteurs chez l'Oiseau adulte. Dans le cas des expériences de BETZ (1967) et de BRASCH et BETZ (1971) on ne peut pas affirmer que l'action exercée par le greffon n'est pas due à la libération d'hormones existant dans l'adénohypophyse

au moment de la greffe. Une telle possibilité est par contre exclue dans nos expériences, étant donné la précocité du prélèvement de la poche de Rathke.

Il est intéressant de comparer les résultats obtenus chez l'embryon de poulet à ceux qui ont été observés chez les Oiseaux adultes d'une part et chez l'embryon ou le fœtus de différents Vertébrés d'autre part.

En ce qui concerne la fonction gonadotrope, il est bien démontré chez l'Oiseau adulte, qu'elle dépend étroitement de la commande hypothalamique (BENOIT et ASSENMACHER, 1955 ; ASSENMACHER, 1958 ; BAYLE, 1968). Selon BETZ (1967) et BRASCH et BETZ (1971) la fonction gonadotrope existerait chez l'embryon et serait indépendante de l'hypothalamus. Rappelons toutefois que les résultats obtenus par WOLFF et STOLL (1937) et par AKRAM et WENIGER (1969) montrent que l'hypophysectomie, pratiquée chez l'embryon, n'affecte pas la différenciation de la gonade.

L'hypothèse d'une intervention de la prolactine pour expliquer l'action exercée sur la croissance par le lobe céphalique, n'est pas incompatible avec les observations effectuées chez les Oiseaux adultes. En effet, si chez certaines espèces comme le Pigeon ou la Caille, la sécrétion de prolactine est complètement abolie quand l'adénohypophyse est privée du contrôle stimulant de l'hypothalamus particulier aux Oiseaux (BAYLE, 1968 ; TIXIER-VIDAL, 1970), cette sécrétion demeure notable et présente une certaine autonomie chez le Canard, comme nous l'avons déjà indiqué.

L'absence d'intervention de tout facteur hypothalamique dans nos expériences, permet de les comparer à celles que PASTEELS (1963) a effectuées in vitro sur l'embryon de Mammifère. La culture prolongée d'antéhypophyse foetale aboutit à une sélection des cellules érythrosinophiles à prolactine au détriment des autres catégories cellulaires. Nous n'avons rien observé de tel, les cellules érythrosinophiles ne manifestent pas, chez l'embryon de poulet, cette capacité particulière de se développer en dehors de tout contrôle hypothalamique.

Chez le Canard adulte, les cellules somatotropes sont soumises à un contrôle hypothalamique; les autogreffes ectopiques effectuées par TIXIER-VIDAL et coll. (1965) montrent, en effet, une involution de cette catégorie cellulaire. Chez les Batraciens, les résultats concernant le contrôle de la fonction STH au cours de la vie larvaire varient selon les espèces. Pour ETKIN et LEHRER (1960) ce contrôle serait de type inhibiteur et pour REMY (1969) la fonction somatotrope serait grandement indépendante. VOITKEVITCH (1963) indique, par contre, que la sécrétion d'hormone somatotrope dépend étroitement des neurosécrétions hypothalamiques. Les résultats que nous avons obtenus chez l'embryon de poulet, montrent que la sécrétion de STH peut s'effectuer indépendamment de l'hypothalamus.

Les expériences de déconnexion hypothalamo-hypophysaire, réalisées chez les Oiseaux adultes, affectent plus ou moins la thyroïde et la surrénale selon que la déconnexion est obtenue par section des vaisseaux portes ou par autogreffe ectopique. Toutefois, les fonctions thyroïdienne et corticotrope manifestent toujours une certaine indépendance, plus ou moins importante selon les espèces, vis-à-vis de la commande hypothalamique (ASSENMACHER et TIXIER-VIDAL, 1962; BAYLE et ASSENMACHER, 1967, 1969; BAYLE et coll. 1967 a et b; BOISSIN, 1967; BAYLE, 1968, 1970). Il faut remarquer d'ailleurs que, chez l'Oiseau adulte hypophysectomisé, si la surrénale et la thyroïde sont en général fortement affectées, un fonctionnement résiduel basal persiste. Les techniques que nous avons utilisées ne nous permettent pas d'affirmer qu'il en est de même chez l'embryon. Toutefois, le fait que chez les embryons hypophysectomisés les cordons corticaux ne soient pas affectés, ou ne le soient que faiblement et le fait que le taux d'acide ascorbique rapporté au poids corporel demeure normal, permettent de penser qu'une activité basale persiste. L'existence d'une certaine autonomie de la surrénale a d'ailleurs été envisagée par ADJOVI (1970) pour expliquer une évolution subnormale de la charge en lipides et en cholestérol qu'elle a observée dans certaines de ses expériences. L'autonomie importante de la différenciation de la surrénale que nous avons

constatée ne nous permet pas d'apporter de précisions en ce qui concerne la sécrétion d'ACTH par le tissu adénohypophysaire différencié en greffe ni, par conséquent, sur l'indépendance éventuelle de la fonction corticotrope vis-à-vis de l'hypothalamus. Comme la surrénale, la thyroïde embryonnaire est vraisemblablement le siège d'une faible activité résiduelle, après hypophysectomie. Les expériences de MARAUD et coll. (1957) ont, en effet, indiqué que chez l'embryon de poulet hypophysectomisé la fixation d'iode par la thyroïde est fortement réduite mais non totalement abolie. La thyroïde des têtards d'Alytes obstetricans conserve également une faible activité après hypophysectomie (REMY, 1969).

Les expériences de décapitation et d'encéphalectomie pratiquées par JOST et coll. (1966) et COHEN et coll. (1971) chez le fœtus de rat ont démontré que la fonction corticotrope possède une certaine autonomie mais que l'hypothalamus peut néanmoins exercer une action stimulante. En ce qui concerne la fonction thyroïdienne, JOST et GELOSO (1967) ont montré qu'elle manifeste une grande indépendance vis-à-vis de l'hypothalamus ce qui, pour ces auteurs, explique que chez les anencéphales humains, dont le lobe antérieur de l'hypophyse est généralement présent, la thyroïde se développe de façon à peu près normale.

Les expériences de culture in vitro effectuées par TIXIER-VIDAL (1958) ont prouvé qu'au cours des jeunes stades (6 à 8 jours) la fonction thyroïdienne manifeste chez l'embryon de poulet une grande indépendance vis-à-vis de l'hypothalamus. Nos résultats nous permettent de préciser que cette indépendance de la fonction thyroïdienne persiste jusqu'à la fin de la vie embryonnaire et qu'il en est de même pour d'autres fonctions, notamment somatotrope.

L'autonomie de la différenciation cytologique et fonctionnelle de l'adénohypophyse ne semble pas persister, au moins totalement, au-delà de l'éclosion. Plusieurs faits permettent de penser que l'adénohypophyse passe, à partir de ce stade, sous le contrôle hypothalamique. En effet, peu avant la fin de l'incubation, les signes d'activité des cellules APS positives de l'adénohypo-

physe diminuent. Après l'éclosion, leur nombre augmente et elles envahissent le lobe caudal. Parallèlement, les cellules acidophiles montrent également des variations importantes, les cellules orangeophiles du lobe caudal se multiplient, alors que les cellules acidophiles céphaliques deviennent moins chromophiles. Les greffes successives de tissu adénohypophysaire différencié in situ nous ont, par ailleurs, permis de constater que le stade de différenciation atteint vers la fin de l'incubation constituait une sorte de limite que la greffe ectopique ne permettait pas de franchir, bien que les greffons soient restés sur des hôtes embryonnaires pendant un laps de temps très supérieur à la durée normale de l'incubation. Rappelons que chez l'embryon de souris c'est vers la fin de la gestation que le contrôle hypothalamique de la fonction corticotrope s'instaure. Cette fonction dépend en effet beaucoup plus de l'hypothalamus entre le 19^e et le 21^e jour de la gestation qu'entre le 18^e et le 19^e jour (DUPOUY et JOST, 1970).

L'indépendance de la différenciation cytologique et fonctionnelle de l'adénohypophyse embryonnaire, que nous avons observée, est à rapprocher de l'autonomie, au moins relative, manifestée par certaines fonctions hypophysaires à la fois chez l'Oiseau adulte et chez l'embryon ou le fœtus d'autres Vertébrés.

Les résultats que nous avons obtenus en ce qui concerne les rapports hypothalamo-hypophysaires chez l'embryon de poulet entrent dans le cadre général de l'évolution ontogénique de ces rapports chez l'embryon et le fœtus. Bien que, en l'état actuel des connaissances dans ce domaine les données soient encore fragmentaires, il apparaît nettement que certaines fonctions au moins de l'adénohypophyse sont indépendantes de l'hypothalamus chez l'embryon. Ceci pose le problème du caractère général de cette autonomie adénohypophysaire : existe-t-elle, pour toutes les fonctions, à certains stades du développement embryonnaire dans les divers groupes de Vertébrés ? D'autre part, le problème se pose également de poursuivre l'analyse, pour les différentes fonctions et dans les divers groupes de Vertébrés, de l'établissement du contrôle hypothalamique du fonctionnement adénohypophysaire tel qu'il existe chez l'adulte.

RESUME

La différenciation de l'ébauche épithéliale de l'adénohypophyse et l'évolution des rapports entre cette ébauche et celle de l'hypothalamus ont été étudiées chez l'embryon d'Oiseau (poulet et caille).

1. - La formation de l'ébauche épithéliale de l'adénohypophyse et sa différenciation ultérieure nécessitent une induction exercée par le plancher prosencéphalique. Cette influence inductrice doit s'exercer au moins jusqu'au stade de 25 somites. En effet, le territoire présomptif isolé avant la formation de l'ébauche ou cette ébauche elle-même isolée avant le stade de 25 somites ne forment jamais de tissu adénohypophysaire en culture in vitro ou en greffe, tandis qu'en présence du plancher prosencéphalique dans l'explant du tissu adénohypophysaire se différencie. Après le stade de 25 somites, la différenciation de l'ébauche épithéliale de l'adénohypophyse séparée du plancher diencéphalique devient possible.

L'action inductrice du plancher prosencéphalique est spécifique: cette région ne peut être remplacée à cet égard par des fragments prélevés à d'autres niveaux des vésicules encéphaliques ou du tube neural.

Le pouvoir inducteur du plancher diencéphalique persiste jusqu'au 4^e jour environ de l'incubation.

A partir du stade (17 ou 18 somites) auquel l'ébauche épithéliale devient visible, son évolution ultérieure n'est pas conditionnée par la présence de la chorde. L'influence éventuelle de cette formation à des stades plus précoces n'a pas été étudiée.

2. - Après le stade de l'induction, l'ébauche épithéliale de l'adénohypophyse peut se différencier indépendamment du plancher encéphalique, mais son évolution requiert la présence d'un tissu mésenchymateux. Cette observation est en accord avec les résultats obtenus pour de nombreuses ébauches épithéliales. Toutefois, dans le cas de l'ébauche adénohypophysaire, le mésenchyme associé peut être d'origine quelconque (céphalique, somitique, splanchnique ...). A des degrés variables dans le détail de la qualité de la différenciation adénohypophysaire obtenue, tous les mésenchymes de l'embryon peuvent être considérés comme "permissifs". Il convient à cet égard de souligner que l'ébauche épithéliale de l'adénohypophyse peut même se différencier en greffe chorio-allantoïdienne sans adjonction d'autres mésenchymes, ce qui n'est pas le cas pour les autres ébauches épithéliales.

3. - L'évolution de l'ébauche adénohypophysaire isolée du plancher encéphalique après le stade de l'induction a été étudiée par la technique des greffes coelomiques et chorio-allantoïdiennes. Les résultats obtenus montrent que dans ces conditions expérimentales la différenciation des catégories cellulaires s'effectue conformément à celle qui se produit in situ. En greffe coelomique, on peut retrouver dans les greffons des zones correspondant à la répartition des types cellulaires dans le lobe céphalique et dans le lobe caudal de l'adénohypophyse embryonnaire. Au contraire, le tissu différencié en greffe chorio-allantoïdienne ne permet pas cette distinction; il est plus homogène à la fois par sa structure et par la répartition des catégories cellulaires.

La différenciation des types cellulaires à partir de l'ébauche épithéliale de l'adénohypophyse a été obtenue non seulement en absence de contact avec le plancher diencéphalique, mais également lorsque les embryons porte-greffe sont décapités, ce qui exclue toute influence de l'hypothalamus sur cette différenciation.

4. - Les conditions de vascularisation assurées par la greffe chorio-allantoïdienne sont particulièrement favorables à la différenciation de l'ébauche adénohypophysaire. Les cellules APS positives se différencient en grand nombre dans la totalité du tissu. Elles proviennent d'ailleurs à la fois de l'évolution des cellules du segment céphalique de la poche de Rathke et de celles du segment caudal. Ce point a pu être établi par la technique des associations hétérospécifiques (poulet et caille) de ces segments, ainsi que par la greffe d'explants constitués uniquement de segments caudaux. Cette influence de la vascularisation peut être mise en rapport avec le fait que, dans la différenciation normale de l'adénohypophyse, le lobe céphalique dont la vascularisation est établie de façon plus précoce se différencie plus rapidement que le lobe caudal. En greffe chorio-allantoïdienne, la vascularisation étant très importante et homogène pour l'ensemble du greffon, les cellules provenant du segment céphalique et du segment caudal évoluent de façon comparable.

5. - L'étude histochimique des cholinestérases a été faite dans le cas de l'adénohypophyse embryonnaire et dans celui du tissu adénohypophysaire différencié en greffe chorio-allantoïdienne. Dans le développement normal, les activités cholinestérasiques ont été détectées dès le 5e jour de l'incubation. Ces activités, initialement faibles, augmentent au cours du développement. Elles sont nettement plus importantes au niveau du lobe céphalique. Dans le tissu adénohypophysaire différencié à partir de la poche de Rathke placée en greffe chorio-allantoïdienne, des activités cholinestérasiques -essentiellement non spécifiques- ont été mises en évidence, sans localisation préférentielle nette. Dans l'hypophyse normale, une forte activité cholinestérasique semble pouvoir être mise en relation avec la localisation des cellules APS positives. En greffe chorio-allantoïdienne on observe une forte activité dans l'ensemble du greffon, ce qui peut être mis en parallèle avec la présence à tous ses niveaux de nombreuses cellules APS positives.

6. - La différenciation cytologique obtenue indépendamment de l'hypothalamus s'accompagne d'une différenciation fonctionnelle qui a pu être mise en évidence pour certaines activités physiologiques.

Cette étude a été effectuée par des expériences en culture in vitro et par des greffes pratiquées sur des embryons privés d'hypophyse et d'hypothalamus par décapitation.

Les résultats au niveau surrénalien de la décapitation précoce de l'embryon sont inconstants et peu nets. De ce fait la fonction ACTH des greffons n'a pu être étudiée.

Le tissu adénohypophysaire obtenu par la différenciation en greffe coelomique de la poche de Rathke, associé in vitro à de jeunes ébauches thyroïdiennes, stimule la différenciation de ces dernières et la production de colloïde. De la même façon, le tissu adénohypophysaire différencié en greffe chorio-allantoïdienne chez des embryons porte-greffe décapités permet une différenciation normale de la thyroïde.

Ce tissu adénohypophysaire améliore considérablement la survie et la croissance pondérale des embryons décapités.

Les résultats obtenus montrent que l'acquisition et la mise en jeu des fonctions thyroïdienne et somatotrope par l'adénohypophyse embryonnaire ne sont pas soumises à une commande hypothalamique.

BIBLIOGRAPHIE

- ADAMS A. E. et BULL A. L. - 1949 - The effects of antithyroid drugs on chick embryos. *Anat. Rec.*, 104, 421-441.
- ADAMS A. E. et BUSS J. A. M. - 1952 - The effect of a single injection of an antithyroid drug on hyperphasia in the thyroid of the chick embryo. *Endocrinology*, 50, 234-253.
- ADELMANN H. B. - 1922 - The significance of the precordial plate; an interpretative study. *Amer. J. Anat.*, 31, 55-101.
- ADJOVI Y. et IDELMAN S. - 1969 - Effet des décapitations tardives sur le développement et l'activité du cortex surrénal de l'embryon de poulet. *J. Physiol.*, 61, suppl. 2, 196.
- ADJOVI Y. - 1970 - Morphogenèse et activité de la glande cortico-surrénale de l'embryon de poulet normal et décapité. *Arch. Anat. micr. Morphol. expér.*, 59, 186-200.
- AKRAM H. et WENIGER J. P. - 1969 - Activité hormonale des gonades d'embryons de Poulet hypophysectomisés. *J. Embryol. exp. Morph.*, 21, 509-515.
- ALBRECHT P. - 1885 - Über Existenz oder Nichtexistenz der Rathkeschen Tasche. *Biol. Centralblatt*, 4, 724-726.
- ALESCIO T. et CASSINI A. - 1962 - L'interazione epithelio-mesenchimale nell'organogenesi del polmone embrionale di topo coltivato in vitro. *Zeitschr. Anat. Entwickl.*, 123, 369-396.
- ALLEN B. M. - 1929 - The influence of the thyroid gland and hypophysis upon growth and development of amphibian larvae. *Quart. Rev. Biol.*, 4, 325-352.
- ALLUCHON-GERARD M. J. - 1970 - Etude au microscope électronique de la différenciation des cellules adénohypophysaires chez l'embryon de *Scyllium canicula* (Sélaciens). *C. R. Acad. Sc.*, 271, 1195-1199.
- AMMON R. et SCHÜTTE E. - 1934 - Über das Verhalten von Enzymen im Hünerei während der Brutung. *Biochem. Zeitsch.*, 274-275, 216-233.
- ANCEL P. - 1937 - Sur le rôle de l'hypophyse et de la thyroïde dans le développement embryonnaire des Vertébrés amniotes. Colloque Singer-Polignac, Edit. HERMANN, Paris, 185-200.
- ARON M. - 1939 - Le fonctionnement de la thyroïde chez l'embryon de Poulet. *C. R. Soc. Biol.*, 132, 544-545.

- ARONSSON J. - 1952 - Studies on the cell differentiation in the anterior pituitary of chick embryos by means of the PAS reaction. Lunds Univ. Arssk., 48, 3-20.
- ARVY L. - 1963 - Histo-enzymologie des glandes endocrines. Edit. GAUTHIER-VILLARS - Paris.
- ARVY L. - 1964 - Contribution à l'histo-enzymologie comparée de l'hypophyse. In: "Comparative neurochemistry", Proceedings of the fifth International Neurochemical Symposium, 313-322.
- ASSENMACHER I. - 1952 - La vascularisation du complexe hypophysaire chez le Canard domestique. II. Le développement embryologique de l'appareil vasculaire hypophysaire. Arch. Anat. micr. Morphol. expér., 41, 69-152.
- ASSENMACHER I. - 1958 - Recherches sur le contrôle hypothalamique de la fonction gonadotrope préhypophysaire chez le Canard. Arch. Anat. Morph. expér., 47, 447-572.
- ASSENMACHER I. - 1963 - cf. GRIGNON G. 1963 - Discussion
- ASSENMACHER I. et TIXIER-VIDAL A. - 1962 - A comparison between the effects of sectionning the pituitary portal vessels with those of hypophysectomy on thyroid function in the male duck. Gen. Comp. Endocr., 2, 38.
- ATWELL W.J. - 1918 - The development of the hypophysis cerebri of the rabbit. Amer. J. Anat., 24, 159-193.
- ATWELL W.J. - 1926 - The development of the hypophysis cerebri in man with special reference to the pars tuberalis. Amer. J. Anat., 37, 159-194.
- ATWELL W.J. - 1935 - Differentiation and function of heterotrophic autoplasic transplants of the amphibian hypophysis. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 33, 224-226.
- ATWELL W.J. - 1937 - Functional transplants of the primordium of the epithelial hypophysis in Amphibia. Anat. Rec., 68, 431-447.
- ATWELL W.J. - 1939 - The morphogenesis of the hypophysis cerebri of the domestic fowl during the second and third week of incubation. Anat. Rec., 73, 57-71.
- ATWELL W.J. et SITLER I. - 1918 - The early appearance of the anlage of the pars tuberalis in the hypophysis of the chick. Anat. Rec., 15, 181-187.
- ATWELL W.J. et J.W. Taft - 1940 - Functional transplants of the epithelial hypophysis in three species of Amblystoma. Proc. Soc. exp. Biol. Med., 44, 53-55.
- AUERBACH R. - 1960 - Morphogenetic interactions in the development of the mouse thymus gland. Develop. Biol., 2, 271-284.

- BARTELS E. A. - 1944 - Morphogenetische Wirkung des Schilddrüsenhormons auf das Integument von Vögelembryonen. W. Roux Arch. Entwickl. Mech. Org., 142, 763-816.
- BATES R. W., MILKOVICS S. et GARRISON M. M. - 1964 - Effects of prolactin, growth hormone and ACTH, alone and in combination upon organ weights and adrenal function in normal rats. Endocrinology, 74, 714-723.
- BATES R. W., MILLER R. A. et GARRISON M. M. - 1962 - Evidence in the hypophysectomized pigeon of a synergism among prolactin, growth hormone, thyroxine and prednisone upon weight of the body digestive tract, kidney and fat stores. Endocrinology, 71, 345-360.
- BATES R. W., RIDDLE O. et MILLER R. A. - 1940 - Preparation of adrenotrophic extracts and their assay on two day chicks. Endocrinology, 27, 781-792.
- BAYLE J. D. - 1968 - Importance respective des principaux niveaux de commande des régulations neuroendocriniennes chez les Oiseaux. Thèse Doct. Etat Sc. Nat., Fac. Sc. Montpellier.
- BAYLE J. D. - 1970 - Importance respective des principaux niveaux de commande des régulations hypothalamo-thyréotropes chez les Oiseaux. J. Physiol., 62, 51-79.
- BAYLE J. D. et ASSENMACHER I. - 1967 - Le contrôle hypothalamo-hypophysaire de la fonction thyroïdienne chez les Oiseaux. Gen. Comp. Endocrinol., 9, 433.
- BAYLE J. D., ASSENMACHER I. - 1969 - Les régulations hypothalamo-hypophysaires des fonctionnements corticosurrénalien et thyroïdien chez la Caille. Bull. Biol. Fr. Belg., 103, 3-4, 245-260.
- BAYLE J. D., ASTIER H. et ASSENMACHER I. - 1967 a - Métabolisme thyroïdien du radio-iode chez l'Oiseau après hypophysectomie ou déconnexion hypothalamo-hypophysaire. J. Physiol., 59, 210.
- BAYLE J. D., BOISSIN J. et ASSENMACHER I. - 1967 b - Le taux plasmatique de la corticostérone libre chez l'Oiseau après hypophysectomie ou déconnexion hypothalamo-hypophysaire. C. R. Acad. Sc., 265, 1524-1526.
- BEARN J. G. - 1968 - Anencephaly and the development of the male genital tract. Acta Paediatrica Acad. Sc. Hungaricae, 9, 159-180.
- BELLWARE F. T. et BETZ T. W. - 1970 - The dependence of duodenal differentiation in chick embryo on pars distalis hormones. J. Embryol. exp. Morph., 24, 335-355.
- BENOIT J. et ASSENMACHER I. - 1955 - Le contrôle hypothalamique de l'activité préhypophysaire gonadotrope. J. Physiol., 47, 427-567.

- BENOIT J. A. A. - 1962 - Le rôle de l'hypophyse dans le développement des embryons de Vertébrés amniotes à sang chaud. *Ann. Biol.*, 1, 297-335.
- BERN H. A. et NICOLL C. S. - 1969 - The zoological specificity of prolactins. In: "La spécificité zoologique des Hormones hypophysaires et de leurs activités". Coll. Int. CNRS n° 177, Edit. CNRS Paris, 193-203.
- BETZ T. W. - 1967 - The effects of embryonic pars distalis grafts on the development of hypophysectomized chick embryos. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 9, 172-186.
- BETZ T. W. - 1968 - The effects of embryonic pars distalis grafts and albumen on the growth of chick embryos. *J. Embryol. exp. Morph.* 20, 3, 431-436.
- BEYER R. E. - 1952 - The effect of thyroxine upon the general metabolism of the intact chick embryo. *Endocrinology*, 50, 497-503.
- BISHOP-CALAME S. - 1966 - Etude expérimentale de l'organogenèse du système urogénital de l'embryon de poulet. *Arch. Anat. micr. Morphol. expér.*, 55, 2, 215-309.
- BLOUNT R. F. - 1930 - The implantation of additional hypophyseal rudiments in urodele embryos. *Proc. Nat. Acad. Sc.*, 16, 218-222.
- BLOUNT R. F. - 1932 - Transplantation and extirpation of the pituitary rudiment and the effects upon pigmentation in the urodele embryo. *J. exp. Zool.*, 63, 113-141.
- BLOUNT R. F. - 1935 - Size relationships as influenced by pituitary rudiment implantation and extirpation in the urodele embryo. *J. exp. Zool.*, 70, 131-185.
- BLOUNT R. F. - 1939 - The question of developmental dependance of the hypophysis upon the brain. *Anat. Rec.*, 73, 7.
- BLOUNT R. F. - 1945 - Interrelationship of parts of hypophysis in development. *J. exp. Zool.*, 100, 79-101.
- BOELL E. J. et SHEN S. C. - 1944 - Functional differentiation in embryonic development. I. Cholinesterase activity of induced neural structures in Amblystoma punctatum. *J. exp. Zool.*, 97, 21-41.
- BOISSIN J. - 1967 - Le contrôle hypothalamo-hypophysaire de la fonction cortico-surrénalienne chez le Canard. *J. Physiol.*, 59, 423-444.
- BRAHMS S. - 1932 - The development of the hypophysis of the Cat Felis domestica. *Amer. J. Anat.*, 50, 251-272.

- BRASCH M. et BETZ T.W. - 1971 - The hormonal activities associated with the cephalic and caudal regions of the cockerels Pars distalis. Gen. Comp. Endocrinol., 16, 241-256.
- BRUNI A.C. - 1914 - Sullo sviluppo del lobo ghiandolare dell' ipofisi negli Amnioti. Inter. Monatsschr. Anat. u. Physiol., 31, 129-237.
- BURCH A.B. - 1938 - Suppression of pars intermedia of pituitary body in Hyla regilla by operations upon the gastrula. Proc. Soc. exp. Biol. Med., 38, 608-610.
- BURCH A.B. - 1939 - Correlative differentiation of the Amphibian epithelial hypophysis. Proc. Soc. exp. Biol. Med., 40, 341.
- CALAME S. - 1961 - Le rôle des composants épithélial et mésenchymateux du métanéphros d'après les résultats de la culture in vitro. Arch. Anat. micr. Morphol. expér., 50, 299-308.
- CARPENTER E. - 1942 - Differentiation of chick embryo thyroids in tissue culture. J. Exp. Zool., 89, 407-431.
- CASE J.F. - 1951 - The effects of decapitation on the functional development of the adrenal cortex in the chick embryo. Doctoral Dissertation, Johns Hopkins University.
- CASE J.F. - 1952 - Adrenal cortical anterior pituitary relationships during embryonic life. Ann. N.Y. Acad. Sc., 55, 147-158.
- CASTANE-DECOUD A., PEDERNERA E. et NARBAITZ R. - 1964 - Accion del ACTH sobre la suprarenal del embrion de pollo. Rev. Soc. Arg. Biol., 40, 181-186.
- CHEN G., OLDHAM F.K. et GEILING E.M.K. - 1940 - Appearance of the melanophore expanding hormone of the pituitary gland in developing chick embryo. Proc. Soc. exp. Biol. Med., 45, 810-813.
- COHEN A. - 1955 - Répartition des lipides dans le cortex surrénal d'embryons de rats décapités. Arch. Anat. micr. Morphol. expér., 44, 265-276.
- COHEN A. - 1958 - Influence de la décapitation du fœtus de rat sur la teneur en acide ascorbique de ses surrénales. Action de la corticostimuline. C.R. Acad. Sc., 246, 1917-1920.
- COHEN A., DUPOUY J.P. et JOST A. - 1971 - Influence de l'hypothalamus sur l'activité corticostimulante de l'hypophyse foetale du Rat au cours de la gestation. C.R. Acad. Sc., 273, 883-886.
- COLLIN R. - 1926 - Kystes à mucine et à épithélium cilié dans la glande pituitaire chez la Poule. C.R. Soc. Biol., 94, 1249-1250.



- CONKLIN J.L. - 1968 - The development of the human foetal adenohypophysis. *Anat. Rec.*, 160, 79-92.
- CREPIN M. et LE DOUARIN G. - 1966 - Activités cholinestérasiques du tissu cardiaque différencié in vitro par le mésenchyme de l'aire cardiaque de l'embryon de poulet. *C. R. Acad. Sc.*, 263, 1479-1481.
- DALCQ - 1948 - cf. GIROUD A. et BOISSELOT J. - 1948 - Discussion.
- DAMERON F. - 1961 - Influence de divers mésenchymes sur la différenciation de l'épithélium pulmonaire de l'embryon de Poulet en culture in vitro. *J. Embryol. exp. Morph.*, 9, 628-633.
- DAMERON F. - 1968 - Etude expérimentale de l'organogenèse du poumon. Nature et spécificité des interactions épithélio-mésenchymateuses. *J. Embryol. exp. Morph.*, 20, 151-167.
- DAUGERAS N. - 1969 - Apparition et évolution quantitative du glycogène hépatique chez l'embryon de poulet. *C. R. Acad. Sc.*, 268, 731-736.
- DE BEER G.R. - 1926 - The comparative anatomy histology and development of pituitary body. Edit. OLIVER and BOYD, London.
- DE ROOS - 1963 - The physiology of the avian interrenal gland: a review. *Proc. Intern. Ornithol. Congr.*, 13th, 1041-1058.
- DIETERLEN-LIEVRE F. - 1970 - Relations épithélio-mésenchymateuses dans la différenciation du pancréas chez l'embryon de poulet. *Ann. Biol.*, 9, 259-266.
- DIERICKX K. - 1963 - A gradient of activity in the hypophysis in relation with the vascularization. *Naturwiss.*, 7, 574-575.
- DOMM L.V. et BLIVAISS B.B. - 1944 - Modifications in feather pattern and growth rate following administration of thiouracil in Brown Leghorn fowl. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 57, 367-368.
- DOSKOCIL M. - 1965 - The development of chicken hypophysis. *Acta Univ. Carol. Medica* 11, 313-332.
- DOSKOCIL M. - 1966 - The study of the proliferative activity of cells of Rathke's pouch and its surroundings in the chick ontogenesis. *Folia morphol. Tcheosl.*, 14, 107-116.
- DOSKOCIL M. - 1967 - Reduktion der Höhle der Rathkeschen Tasche und der Adenohypophyse während der Entwicklung des Hühnchens. *Z. Mikr. anat. Forsch., Dtsch.*, 77, 12-28.
- DOSKOCIL M. - 1968 - Transfilter influence of brain tissue on the differentiation of the stomodeal epithelium in vitro. *Ann. Med. exp. Biol. Fenn.*, 46, 288-292.

- DOSKOCIL M. - 1969 - The development of the external shape of infundibulum and neurohypophysis of the chick embryo. Act. Univ. Carol. Med., 15, 73-99.
- DREWS U., KUSSÄTHER E. et USADEL K.H. - 1967 - Histochemischer Nachweis der Cholinesterase in der Frühentwicklung der Hühnerkeimscheibe. Histochem., 8, 65-89.
- DREWS U., KUSSÄTHER E. et USADEL K.H. - 1969 - Cholinesterase Aktivität bei der Frühentwicklung der Inselanlagen des Hühnerembryos. Horm. Met. Res., 1, 14-18.
- DRISCOLL W. T. et EAKIN R. M. - 1955 - The effects of sucrose on Amphibian development with special reference to the pituitary body. J. exp. Zool., 129, 149-176.
- DUBOIS P. - 1971 - Signification d'une catégorie cellulaire de l'antéhypophyse foetale humaine. C. R. Acad. Sc., 273, 880-882.
- DUMONT L. - 1956 - Localisation histochimique d'acétylcholinesterase dans l'adénohypophyse du Lapin. C. R. Acad. Sc., 242, 296-298.
- DUPOUY J. P. et JOST A. - 1970 - Aktivité corticotrope de l'hypophyse foetale du Rat: influence de l'hypothalamus et des corticostéroïdes. C. R. Soc. Biol., 164, 2422-2427.
- DURSY E. - 1868 - Beiträge zur Entwicklungsgeschichte des Hirnanhangs. Centralblatt med. Wissensch., 6, 113-115.
- EAKIN R. M. - 1939 - Correlative differentiation of the intermediate lobe of the pituitary in Triturus torosus. Growth, 3, 373-380.
- EAKIN R. M. - 1953 - Functional differentiation of the intermediate lobe of the Amphibian pituitary dependent on nervous tissue. Anat. Rec., 117, 613-614.
- EAKIN R. M. - 1956 - Differentiation of the transplanted and explanted hypophysis of the Amphibian embryo. J. exp. Zool., 131, 263-290.
- EAKIN R. M. et BUSH F. E. - 1951 - The development of the neural lobe of the pituitary in hypophysectomized embryos of the tree-frog, Hyla regilla. Anat. Rec., 111, 544-545.
- EAKIN R. M. et BUSH F. E. - 1957 - Development of the Amphibian pituitary with special reference to the neural lobe. Anat. Rec., 129, 279-295.
- EBERT J. D. - 1957 - Annual report of the director of the department of Embryology. Yb. Carnegie Inst. Wash., 56, 297-356.
- ECONOMO C. J. - 1899 - Zur Entwicklung der Vögelhypophyse. Sitzber. Akad. Wissensch. Wien, Mathem.-Naturwiss. Kl., 108, 281-297.

- ELTON R.L., ZARROW I.G. et ZARROW M.X. - 1959 - Depletion of adrenal ascorbic acid and cholesterol: a comparative study. *Endocrinology*, 65, 152-157.
- ENEMAR A. - 1960 - The development of the hypophysial vascular system in the lizards Lacerta a. agilis linnaeus and Anguis fragilis linnaeus and in the snake Natrix n. natrix linnaeus with comparative remarks on the Amniota. *Acta Zool. Stockh.*, 41, 141-237.
- ENEMAR A. - 1967 - Ontogeny of the hypophysial growth promoting activity in the chick. *J. Endocrinol.*, 37, 9-15.
- ENEMAR A., ESSVIK B. et KLANG R. - 1968 - Growth promoting effects of ovine somatropin and prolactin in tadpoles of Rana temporaria. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 11, 328-331.
- ETKIN W. - 1935 - Effect of multiple pituitary primordia in the tadpole. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 32, 1653-1655.
- ETKIN W. - 1939 - On the nature of the thyrotropic field phenomenon in the tadpole of Rana pipiens and Rana sylvatica. *Anat. Rec.*, 73, 18.
- ETKIN W. - 1940 a - Infundibular pituitary interrelationship in the tadpole. *Anat. Rev.*, 78, suppl., 122.
- ETKIN W. - 1940 b - Developmental relationship between pars intermedia of pituitary and brain in tadpoles. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 44, 471-473.
- ETKIN W. - 1941 - Infundibular control of pars intermedia activity in the frog. *Anat. Rec.*, 79, suppl., 87.
- ETKIN W. - 1943 - The developmental control of pars intermedia by brain. *J. exp. Zool.*, 92, 31-47.
- ETKIN W. - 1958 a - Embryonic determination of the adeno-hypophysis in the wood frog, Rana sylvatica. *Anat. Rec.*, 131, 548.
- ETKIN W. - 1958 b - Independent differentiation in components of the pituitary complex in the wood frog. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 97, 388-393.
- ETKIN W. - 1967 - Relation of the pars intermedia to the hypothalamus. In "Neuro-endocrinology". Eds. L. Martini et W.F. Ganong, Acad. Press, New-York and London, 2, 261-282.
- ETKIN W. et LEHRER R. - 1960 - Excess growth in tadpoles after transplantation of the adeno-hypophysis. *Endocrinology*, 65, 457-466.
- ETKIN W. et ROSENBERG L. - 1938 - Infundibular lesion and pars intermedia activity in the tadpole. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 39, 332-334.
- EVANS H.M., SPARKS L.L. et DIXON J.S. - 1966 - The physiology and chemistry of adrenocorticotrophin. In "The pituitary gland", Eds G.W. Harris and B.T. Donovan, Butterworth - London, 1, 317-373.
- EYAL-GILADI H. - 1958 - The notochord as inductor of the orohypophysis in Urodels (Pleurodeles Walttii). *Proc. Kon. Ned. Akad. Wet.*, Amsterdam, 61, 224-234.

- FERRAND R. - 1969 a - Influence inductrice exercée par le plancher encéphalique sur l'ébauche adénohypophysaire aux jeunes stades du développement de l'embryon de poulet. C. R. Acad. Sc., 268, 550-553.
- FERRAND R. - 1969 b - Différenciation en greffe chorio-allantoïdienne de l'épithélium de la poche de Rathke d'embryons de caille et de poulet. C. R. Soc. Biol., 163, 2669-2672.
- FERRAND R. - 1970 a - Différenciation de tissu adénohypophysaire à partir de la poche de Rathke greffée chez des embryons de poulet privés d'hypothalamus. C. R. Acad. Sc., 270, 1480-1481.
- FERRAND R. - 1970 b - Etude expérimentale de la différenciation de l'adénohypophyse chez l'embryon de poulet. Ann. Biol., 9, 117-126.
- FERRAND R. - 1971 a - Influence de la vascularisation sur la différenciation des types cellulaires de l'adénohypophyse chez l'embryon d'Oiseau. C. R. Soc. Biol., 165, 392-395.
- FERRAND R. 1971 b - Etude expérimentale de l'influence de la vascularisation et de la nature du mésenchyme support dans l'évolution de la poche de Rathke de l'embryon d'Oiseau. C. R. Ass. Anat., 151, 328-334.
- FERRAND R. - 1971 c - Activité thyroïdienne du tissu adénohypophysaire différencié en greffe chorio-allantoïdienne chez l'embryon de poulet. C. R. Soc. Biol., sous presse.
- FERRAND R. et LE DOUARIN G. - 1971 - Activités cholinestérasiques mises en évidence chez l'embryon de poulet dans le tissu adénohypophysaire différencié in situ ou en greffe chorio-allantoïdienne. C. R. Acad. Sc., 272, 1531-1533.
- FERRAND R. et LE DOUARIN N. - 1968 - Différenciation de tissu adénohypophysaire à partir de la poche de Rathke prélevée après le stade de la détermination et mise au contact de divers mésenchymes. C. R. Soc. Biol., 162, 2215-2218.
- FERRAND R. et NANOT J. - 1968 - Différenciation de la poche de Rathke isolée de l'ébauche nerveuse de l'hypophyse et associée à un mésenchyme hétérologue chez la Souris. C. R. Soc. Biol., 162, 983-985.
- FONTAINE J. - 1971 - Analyse de l'action sur l'endoderme hépatique de substrats mésodermiques totalement ou partiellement inhibiteurs de la différenciation des hépatocytes chez l'embryon d'Oiseau. Thèse de Doctorat de Spécialité, UER Sciences de la Nature, Nantes.
- FOOTE C.L. - 1955 - Studies on thyroid glands, adrenal glands and reproductive systems of acephalic hamster fetuses. Trans. Illinois Acad. Sci., 47, 173-183.
- FOOTE C.L. et FOOTE F.M. - 1949 - Changes in the thyroid gland of hamster embryos hypophysectomized by decapitation. Anat. Rec., 105, 559-560.
- FRANKEL A.I., GRABER J.W. et NALBANDOV A.V. - 1967 - The effect of hypothalamic lesions on Adrenal function in intact and adeno-hypophysectomized cockerels. Gen. Comp. Endocrinol., 8, 387-396.

- FRIEDMAN B. - 1934 - The mesodermal relations of the pars buccalis of the hypophysis in the duck. *J. Morphol.*, 55, 611-631.
- FUGO N.W. - 1940 - Effect of hypophysectomy in the Chick embryo. *J. exp. Zool.*, 85, 271-298.
- FUGO N.W. et WITSCHI E. - 1938 - Removal of the hypophyseal primordium in the Chick during the second day of incubation. *Act. Biol. Latvica*, 8, 73-79.
- GAILLARD P.J. - 1937 - An experimental contribution to the origin of the pars intermedia of the hypophysis. *Acta Neerl. Morph., Norm. Pathol.*, 1, 3-11.
- GAILLARD P.J. - 1953 - Differentiation phenomena in explants of the embryonic chick thyroid gland. *Acta Physiol. Pharmacol. Neerl.*, 3, 439-448.
- GENTES L. - 1907 - Recherches sur l'hypophyse et le sac vasculaire des Vertébrés. *Soc. Sc., Arcachon*, 10, 129-282.
- GEORGE W.C. - 1942 - A case of double notochord in a Pig embryo. *Anat. Rec.*, 82, 465-466.
- GEREBTZOFF M.A. - 1953 - Recherches histochimiques sur les acétylcholines et cholinestérases. I. Introduction et technique. *Acta anat.*, 19, 366-379.
- GEREBTZOFF M.A. - 1959 - "Cholinestérases". Ed. Mac-Millan (Pergamon), New-York.
- GILBERT M.S. - 1935 - Some factors influencing the early development of mammalian hypophysis. *Anat. Rec.*, 62, 337-360.
- GIROUD A. et BOISSELOT J. - 1948 - Rôle de la chorde sur le développement de l'hypophyse. A propos d'un cas de dédoublement partiel. *C. R. Ass. Anat.*, 54, 183-187.
- GIROUD A. et ROUX C. - 1959 - Système chordal et développement de l'hypophyse. *Arch. Anat. micr. Morphol. expér.*, 48 bis, 101-109.
- GOERINGER G.C. - 1959 - Modified development of the integument of hypophysectomized chick embryos. I. The epidermis. II. The feather germs. Doctoral Dissertation, Northwestern University.
- GOMOT L. - 1958 - Interaction ectoderme-mésoderme dans la formation des invaginations uropygiennes des Oiseaux. *J. Embryol. exp. Morph.*, 6, 162-170.
- GOURDJI D. et TIXIER-VIDAL A. - 1969 - Quelques aspects nouveaux du rôle de la prolactine chez les Oiseaux. In "La spécificité zoologique des hormones hypophysaires et de leurs activités". *Coll. internat. C.N.R.S.*, n° 177, Ed. C.N.R.S. Paris, 231-245.
- GRIGNON G. - 1952 - Evolution de la poche de Rathke chez l'embryon de la Poule. Problème posé par la pars intermédia. *C. R. Ass. Anat.*, 68, 557-567.
- GRIGNON G. - 1955 - Etude de la substance neurosécrétée au niveau du système hypothalamo-hypophysaire chez l'embryon de Poule Rhode-Island. *C.R. Soc. Biol.*, 149, 1457-1459.

- GRIGNON G. - 1956 - Développement du complexe hypothalamo-hypophysaire chez l'embryon de Poulet. Thèse de Médecine, Nancy.
- GRIGNON G. - 1957 - Aspects histophysiologiques du développement du complexe hypothalamo-hypophysaire chez l'embryon de Poulet. Bull. Soc. Sc. Nancy, 86-100.
- GRIGNON G. - 1963 - Cytophysiologie de l'adénohypophyse des Reptiles. In "Cytologie de l'adénohypophyse". Publié par J. Benoit et C. Dalgé, Ed. C.N.R.S. Paris, 287-300.
- GRIGNON G., GUEDENET J.C. et HATIER R. - 1966 - Sur la cytologie de l'adénohypophyse de l'embryon de poulet étudiée au microscope électronique. Bull. Assoc. Anat., 466-470.
- GRIGNON G., HATIER R., GUEDENET J.C. et DOLLANDER A. - 1967 - Etude ultrastructurale de la réponse des cellules de la cortico-surrénale à un traitement par l'ACTH ou la métopirone chez l'embryon de poulet et chez le Poussin. J. Microsc., 6, 58a et b.
- GROBSTEIN C. - 1953 - Epithelio-mesenchymal specificity in the morphogenesis of mouse submandibular rudiments in vitro. J. exp. Zool., 124, 383-414.
- GROBSTEIN C. - 1955 a - Inductive interaction in the development of the mouse metanephros. J. exp. Zool., 130, 319-340.
- GROBSTEIN C. - 1955 b - Tissue interaction in the morphogenesis of mouse embryonic rudiments in vitro. In "Aspects of Synthesis and Order in growth. Princeton Univ. Press, 233-256.
- GROBSTEIN C. - 1956 - Transfilter induction in tubules in mouse metanephrogenic mesenchyme. Exp. Cell. Res., 10, 424-440.
- GROBSTEIN C. - 1957 - Some transmission characteristics of the tubule inducing influence of mouse metanephrogenic mesenchyme. Exp. Cell Res., 13, 575-587.
- GROENENDIJK-HUIJBERS M.M. - 1960 - Influence of implanted pituitary glands on the right ovary of chick embryos. Anat. Rec., 136, 202-203.
- GROENENDIJK-HUIJBERS M.M. - 1968 - Problems concerning the rudimentary right ovary in chicken and chicken embryo. Arch. néerl. Zool., 18, 3, 417-419.
- GYEVAI A. - 1969 - Comparative histochemical investigations concerning prenatal and postnatal cholinesterase activity in the heart of chickens and rats. Acta biol. Acad. Sci. hung., 20, 253-262.
- HAASE E. et FARNER D.S. - 1969 - Acetylcholinesterase in der Pars distalis von Zonotrichia leucophrys gambelii (Aves). Z. Zellforsch. mikr. Anat., Dtsch., 93, 356-368.
- HAMBURGER V. et HAMILTON H.L. - 1951 - A series of normal stages in the development of the chick embryo. J. Morph., 88, 49-92.
- HAMPE A. - 1956 - Influence de la calotte épidermique du bourgeon de patte de poulet sur la formation d'articles distaux. C. R. Soc. Biol., 150, 1671-1673.

- HANAOKA Y. - 1967 a - The effects of posterior hypothalectomy upon the growth and metamorphosis of the tadpole of Rana pipiens. Gen. Comp. Endocrinol., 8, 417-431.
- HANAOKA Y. - 1967 b - Effect of phenylthiourea upon posterior hypothalectomized tadpoles of Rana pipiens. Gen. Comp. Endocrinol., 9, 24-30.
- HEGGESTAD C.B. et WELLS L.J. - 1965 - Experiments on the contribution of somatotrophin to prenatal growth in the rat. Acta anat., 60, 348-361.
- HEGRE E.S. - 1946 - The developmental relationship between the nervous and epithelial components of the hypophysis. J. exp. Zool., 101, 65-79.
- HERLANT M. - 1954 - Anatomie et physiologie comparées de l'hypophyse dans la série des Vertébrés. Bull. Soc. Zool. Fr., 79, 256-281.
- HERLANT M. - 1960 - Etude critique de deux techniques nouvelles destinées à mettre en évidence les différentes catégories cellulaires présentes dans la glande pituitaire. Bull. Micr. appl., 10, 37-44
- HERLANT M., BENOIT J., TIXIER-VIDAL A. et ASSENMACHER I. - 1960 - Modifications hypophysaires au cours du cycle annuel chez le Canard Pékin mâle. C. R. Acad. Sc., 250, 2936-2938.
- HERLANT M. et GRIGNON G. - 1961 - Le lobe glandulaire de l'hypophyse chez la Tortue terrestre (Testudo mauritanica Dumer.). Etude histochemique et histophysiologique. Arch. Biol., 72, 97-151.
- HERRING P. T. - 1908 - A contribution to the comparative physiology of the pituitary body. Quart. J. Exp. Physiol., 1, 261-285.
- HERRING P. T. - 1913 - Further observations upon the comparative anatomy and physiology of the pituitary body. Quart. J. Exp. Physiol., 6, 71-108.
- HILLARP N. et HÖKFELT B. - 1955 - Evidence of adrenaline and noradrenaline in separate adrenal medullary cells. Acta Physiol. Scand., 30, 55-56.
- HILLEMANN H.H. - 1943 - An experimental study of the development of the pituitary gland in chick embryos. J. exp. Zool., 93, 347-373.
- HINNI J.B. et WATTERSON R.L. - 1963 - Modified development of the duodenum of chick embryos hypophysectomized by partial decapitation. J. Morph., 113, 381-426.
- HOLT E. - 1921 - Absence of the pars buccalis of the hypophysis in a pig. Anat. Rec., 22, 207-216.
- HOUSSAINT E. et LE DOUARIN N. - 1968 - La différenciation de l'endoderme hépatique de poulet associé au mésenchyme métanéphritique de l'embryon de souris. C. R. Acad. Sc., 267, 201-202.

- HSIEH K.M., WANG T.Y. et BLUMENTHAL H.T. - 1952 - The diabetogenic and growth promoting activities of growth hormone (somatotropin) in the developing chick embryo. *Endocrinology*, 51, 298-301.
- HUNT T.E. - 1931 - An experimental study of the independent differentiation of the isolated Hensen's node and its relation to the formation of axial and non-axial parts in the chick embryo. *J. exp. Zool.*, 59, 395-427.
- IDELMAN S. - 1967 - Réalisation d'un syndrome hypophyseoprive par "décapitation" tardive chez l'embryon de Poulet (Leghorn blanc). I. Description de la technique. *C. R. Soc. Biol.*, 4, 806-808.
- JAILER J.W. et BOAS N.F. - 1950 - The inability of epinephrine or adrenocorticotrophic hormone to deplete the ascorbic content of the chick adrenal. *Endocrinology*, 46, 314-318.
- JOHNSON L.G. - 1968 - Endocrine influences on growth and pigmentation of embryonic down feather cells. *J. Embryol. exp. Morphol.*, 20, 319-327.
- JOST A. - 1947 - Expériences de décapitation de l'embryon de Lapin. *C. R. Acad. Sc.*, 225, 322-324.
- JOST A. - 1948 - Influence de la décapitation sur le développement du tractus génital et des surrénales de l'embryon de lapin. *C. R. Soc. Biol., Paris*, 142, 273-275
- JOST A. - 1951 - La physiologie de l'hypophyse foetale. *Biol. Med., Paris*, 40, 205-229.
- JOST A. - 1953 - Sur le développement de la thyroïde chez le fœtus de lapin décapité. *Arch. Anat. micr. Morphol. expér.*, 42, 168-183.
- JOST A. - 1966 - Anterior pituitary function in foetal life. In "The pituitary gland". Ed. C.W. Harris and B.T. Donovan, Butterworths London. 2, 299-323.
- JOST A. et COLONGE R.A. - 1949 - Greffe de testicule foetal de rat sur l'adulte castré et hypophysectomisé. Remarques sur la physiologie du testicule foetal de rat. *C. R. Soc. Biol.*, 143, 140-142.
- JOST A. et DANYSZ P. - 1952 - Recherches histochimiques (réaction de MacManus) et expérimentales (décapitation) sur la physiologie de l'hypophyse foetale. *C. R. Soc. Biol.*, 146, 1062-1066.
- JOST A., DUPOUY J.P. et MONCHAMP A. - 1966 - Fonction corticotrope de l'hypophyse et hypothalamus chez le fœtus de Rat. *C. R. Acad. Sc.*, 262, 147-150.
- JOST A. et GELOSO A. - 1967 - Réponse de la thyroïde foetale du Rat au propylthiouracile en l'absence d'hypothalamus. Remarques sur les glandes endocrines du fœtus anencéphale humain. *C. R. Acad. Sc.*, 265, 625-627.

- JOST A. et GONSE P. - 1953 - Application de la méthode à l'acide periodique Schiff (Mac Manus), à l'étude histophysiologique de l'hypophyse foetale du Lapin. Arch. Anat. micr. Morph. exp., 42, 243-273.
- JOST A. et JACQUOT R. - 1955 - Recherches sur les facteurs endocriniens de la charge en glycogène du foie foetal chez le Lapin (avec des indications sur le glycogène placentaire). Ann. Endocrinol., Paris, 16, 849-872.
- JOST A. et JACQUOT R. - 1958 - Sur le rôle de l'hypophyse, des surrénales et du placenta dans la synthèse de glycogène par le foie foetal du Lapin et du Rat. C. R. Acad. Sc., 247, 2459-2462.
- KERR T. - 1946 - The development of the pituitary of the laboratory mouse. Quart. J. Micr. Sci., 87, 1-29.
- KIENY M. - 1960 - Rôle inducteur du mésoderme dans la différenciation précoce du bourgeon de membre chez l'embryon de Poulet. J. Embryol. exp. Morph., 8, 457-467.
- KINGSBURY B.F. - 1922 - The fundamental plan of vertebrate brain. J. Comp. Neurol., 34, 461-490.
- KINGSBURY B.F. et ADELMAN H.B. - 1924 - The morphological plan of the head. Quart. J. Micr. Sci., 68, 239-285.
- KINGSBURY J.W., EMERY S.L. et ADAMS A.E. - 1955 - Effects of thiourea on the adrenal glands of chick embryos. Endocrinology, 56, 229-304.
- KINYON N. et WATTERSON R.L. - 1958 - Reduced endocrine activity of ovaries of hypophysectomized duck embryos as indicated by modified development of genital buterle and syrinx. Physiol. Zool., 31, 60-72.
- KOBAYASHI H. et FARNER D.S. - 1964 - Cholinesterases in the hypothalamo-hypophysial neurosecretory system of the White-crowned Sparrow Zonotrichia leucophrys gambelii. Z. Zellforsch., 63, 965-973.
- KOELLE G.B. et FRIEDENWALD J.S. - 1949 - A histochemical method for localizing cholinesterase activity. Proc. Soc. exp. Biol. med., 70, 617-622.
- KOELLE G.B. et GEESEY C.N. - 1961 - Localization of acetylcholinesterase in the neurohypophysis and its functional implications. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 106, 625-628.
- KONIGSBERG I.R. - 1954 - The effects of early pituitary removal by "decapitation" on carbohydrate metabolism in the chick embryo. J. exp. Zool., 125, 151-169.
- KONIGSBERG I.R. - 1958 - Thyroid regulation of protein and nucleic acid accumulation in developing skeletal muscle of the chick embryo. J. Cell. Comp. Physiol., 52, 13-41.

- KRATOCHWIL K. - 1968 - Mesenchymabhängigkeit der Organdifferenzierung
Verh. Deutsch. Gesell. Path., 52, 441-445.
- KUPFER C. von - 1893 - Entwicklungsgeschichte des Kopfes. Erg. Anat., 2,
501-564.
- LE DOUARIN G. et FERRAND R. - 1968 - Différenciation fonctionnelle de
l'ébauche épithéliale de l'adénohypophyse isolée du plancher encé-
phalique : activité thyroïdienne. C. R. Acad. Sc., 266, 697-699.
- LE DOUARIN N. - 1963 a - Rôle du mésenchyme dans l'histogenèse hépati-
que chez l'embryon de poulet. C. R. Acad. Sc., 257, 255-257.
- LE DOUARIN N. - 1963 b - Action inductrice précoce du mésoderme de l'ai-
re cardiaque sur l'endoderme hépatique de l'embryon de Poulet.
C. R. Acad. Sc., 257, 1357-1360.
- LE DOUARIN N. - 1964 - Etude expérimentale de l'organogenèse du tube di-
gestif et du foie chez l'embryon de Poulet. Bull. Biol., 98, 544-
676.
- LE DOUARIN N. - 1967 - Induction de détermination et induction de différen-
ciation au cours du développement du foie et de certains organes
d'origine endomésodermique. In "Les Interactions Tissulaires au
cours de l'organogenèse". Ed. Dunod, Paris, 66-95.
- LE DOUARIN N. - 1969 - Communication personnelle.
- LE DOUARIN N. et BARQ G. - 1969 - Sur certaines caractéristiques du noyau
interphasique chez la Caille japonaise (Coturnix coturnix japonica).
C. R. Soc. Biol., 163, 949-951.
- LE DOUARIN N., BUSSONNET C. et CHAUMONT F. - 1968 - Etudes des
capacités de différenciation et du rôle morphogène de l'endoderme
pharyngien chez l'embryon d'Oiseau. Ann. Embryol. Morphol., 1,
29-39.
- LE DOUARIN N. et CHAUMONT F. - 1966 - La différenciation morphologique
et fonctionnelle de l'endoderme hépatique en présence de mésenchy-
mes hétérologues. C. R. Soc. Biol., 160, 1868-1871.
- LE DOUARIN N., FERRAND R. et LE DOUARIN G. - 1967 a - La différencia-
tion de l'ébauche épithéliale de l'hypophyse séparée du plancher encé-
phalique et placée dans des mésenchymes hétérologues. C. R. Acad.
Sc., 264, 3027-3029.
- LE DOUARIN N., FERRAND R. et LE DOUARIN G. - 1967 b - Evolution de
l'ébauche de l'adénohypophyse isolée du plancher encéphalique aux
jeunes stades du développement. C. R. Soc. Biol., 161, 1807-1811.
- LEGAIT E. et LEGAIT H. - 1955 - Modifications du lobe distal de l'hypophyse
et de la neurohypophyse chez le poussin ou la poule Rhode-Island
après injection d'interméline. C. R. Soc. Biol., 149, 2207-2209.

- LEGAIT H. - 1957 - A propos des formations kystiques des lobes antérieur, tubéraux et nerveux de la poule. C. R. Soc. Biol., 151, 158-161.
- LE LIEVRE C. - 1969 - Recherches expérimentales sur le développement de la glande thyroïde chez l'embryon de poulet. Thèse de doctorat de spécialité. Faculté des Sciences, Nantes.
- LE LIEVRE C. et LE DOUARIN N. - 1970 - Etude expérimentale du développement de la glande thyroïde chez l'embryon de poulet. Ann. Biol., 9, 285-291.
- LENYS D. - 1962 - Etude morphologique des relations neurovasculaires hypothalamo-hypophysaires. Thèse Médecine, Nancy.
- LEVINA S. E. - 1968 - Endocrine features in development of human hypothalamus, hypophysis and placenta. Gen. Comp. Endocrinol., 11-151-159.
- LICHT P. et HOYER H. - 1968 - Somatotrophic effects of exogenous prolactin and growth hormone in juvenile Lizards (Lacerta S. sicula). Gen. Comp. Endocrinol., 8, 228-244.
- LILLIE F. R. - 1930 - The development of the chick. 2nd édit., Ed. Hervy Holt & C°, New-York.
- LUPS T. - 1929 - Über die Entwicklung der Hypophysis cerebri bei der Ente und beim Hünchen. Anat. Anz., 67, 161-180.
- MA C. S. et NALBANDOV A. V. - 1963 - The transplanted hypophysis : discussion. In "Advances in Neuroendocrinology". Ed. A. V. Nalbandov. Univ. Illinois Press, Urbana, 306-311.
- MAC CALL J. O. - 1943 - A case of duplication of the hypophysis in a 10 mm pig embryo. Anat. Rec., 87, 215-219.
- MARAUD R., STOLL R. et BLANQUET P. - 1957 - Sur le rôle de l'hypophyse dans la concentration du radio-iode par la thyroïde de l'embryon de Poulet. C. R. Soc. Biol., 151, 572-574.
- MARTINDALE F. M. - 1941 - Initiation and early development of thyrotropic function in incubating chick. Anat. Rec., 79, 373-385.
- MATSUO S., VITUMS A., KING J. R. et FARNER D. S. - 1969 - Light microscope studies of the cytology of the adenohypophysis of the White-crowned Sparrow Zonotrichia leucophrys gambelii. Z. Zellforsch. mikr. Anat. Dtsch, 95, 143-176.
- MESS B. et STRAZNICKY K. - 1964 - Functional differentiation of the thyroid gland investigated by I^{131} autoradiography in decapitated chick embryos bearing hypophyseal homographs. Acta Biol. Hung., 15, 77-85.
- MIHALKOVICS V. von - 1874 - Über die Entwicklung des Hirnanhanges und das vordere Ende der chorda. Zentralblatt med. Wissenschaft, 12, 307-308.
- MIHALKOVICS V. von - 1875 - Wirbelseite und Hirnanhang. Arch. mikr. Anat., 11, 389-441.
- MIKAMI S. I. - 1958 - The cytological significance of regional patterns in the adenohypophysis of the fowl. J. Fac. Agr. Iwate Univ., 3, 473-545.

- MIKAMI S.I. - 1969 - Morphological studies of the avian adenohypophysis related to its function. Gunma Symp. Endocrinol., 6, 151-170.
- MIKAMI S.I., VITUMS A. et FARNER D.S. - 1969 - Electron microscopic studies on the adenohypophysis of the white-crowned sparrow, *Zonotrichia leucophrys gambelii*. Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat., 97, 1-29.
- MINOT C.S. - 1897 - Human embryology. Ed. Mac Millan Cie, New-York.
- MITSKEVICH M.S. - 1957 - Experimental analysis of the functional inter-relationship between the hypophysis and thyroid glands during the period of embryonic development of birds and mammals. In "Glands of internal secretion in the embryonic development of birds and mammals." Academy of Sciences U.S.S.R. Moscow, 104-151.
- MOOG F. - 1961 - The functional differentiation of the small intestine. IX The influence of thyroid function on cellular differentiation and accumulation of alkaline phosphatase in the duodenum of the chick embryo. Gen. Comp. Endocrinol., 1, 416-432.
- MOOG F. et FORD E. - 1957 - Influence of exogenous ACTH on body weight, adrenal growth, duodenal phosphatase, and liver glycogen in the chick embryo. Anat. Rec., 128, 592.
- MOOG F. et RICHARDSON D. - 1955 - The functional differentiation of the small intestine. IV The influence of adrenocortical hormones on differentiation and phosphatase synthesis in the duodenum of the chick embryo. J. exp. Zool., 130, 29-55.
- MOSCONA A. - 1952 - Cell suspensions from organ rudiments of chick embryos. Exp. Cell. Res., 3, 535-539.
- MOSCONA A. et MOSCONA H. - 1952 - The dissociation and aggregation of cells from organ rudiments of the early chick embryo. J. Anat., 86, 287-301.
- MOSCONA H. et MOSCONA A. - 1952 - The development in vitro of the anterior lobe of the embryonic chick pituitary. J. Anat., 86, 278-286.
- MOSIER H.D. - 1955 - The development of the hypothalamo-neurohypophyseal secretory system in the chick embryo. Endocrinology, 57, 661-669.
- MOSZKOWSKA A. - 1949 - Pouvoir corticotrope et gonadotrope de l'hypophyse embryonnaire du Poulet. C. R. Soc. Biol., 143, 1332-1333.
- MOSZKOWSKA A. - 1956 - Activité gonadotrope de l'antéhypophyse d'embryon de poulet. Etude in vitro. Arch. Anat. Micr. Morph. exp., 45, 65-76.
- MOSZKOWSKA A. - 1958 - Etude in vitro de l'hypothalamus et de l'activité préhypophysaire gonadotrope chez l'embryon de poulet. C. R. Soc. Biol., 152, 725-728.

- MÜLLER W. - 1871 - Über Entwicklung und Bau der Hypophysis und des Processus infundibuli cerebri. Jen. Z. Med., Naturwiss., 6, 354-425.
- NACHMANSOHN D. - 1938 - Cholinesterase dans les tissus embryonnaires. C. R. Soc. Biol., 127, 670-673.
- NACHMANSOHN D. - 1939 - Cholinesterase dans le système nerveux central. Bul. Soc. Chim., 21, 761-796.
- NALBANDOV A.V. - 1966 - Hormonal activity of the pars distalis in Reptiles and Birds. In "The Pituitary Gland". Ed. G.W. Harris et B.T. Donovan. Butterworths - London, 1, 295-316.
- NELSON W.O. - 1933 - Studies on the anterior hypophysis. I The development of the hypophysis in the pig (*Sus scrofa*). II The cytological differentiation in the anterior hypophysis of the foetal pig. Amer. J. Anat., 52, 307-332.
- NEWCOMER W.S. - 1959 - Effects of hypophysectomy on some functional aspects of the adrenal gland of the chicken. Endocrinology, 65, 133-135.
- NONAKA T. et SATO S. - 1957 - Experimental transplantation of the adeno-hypophysis primordium into the anuran embryo. Okajimas Folia Anat. jap., 30, 107-115.
- OBOUSSIER H. - 1948 - Über die grössen beziehungen der Hypophyse und ihrer Teile bei Säugetieren und Vögeln. W. Roux. Arch. Entw. Mech. Org., 143, 181-274.
- ORTS-LLORCA - 1959 - Communication personnelle faite à Giroud et Roux.
- PAINTER B. T. - 1942 - Studies on the avian pituitary. I The development of the duck pituitary with special reference to changes in the pars buccalis. Anat. Rec., 84, 387-400.
- PARKER K.M. - 1917 - The development of hypophysis cerebri pre-oral gut, and related structures in the Marsupiala. J. Anat., 51, 181-249.
- PASETTO N. - 1951 - Sulla natura colinergica del controllo nervoso della ipofisi anteriore. Arch. Fisiol., 51, 33-40.
- PASETTO N. - 1952 - Sul meccanismo colinergico delle correlazioni ipotalamo-postipofisarie. Arch. Fisiol., 52, 1-6.
- PASETTO N. - 1958 - Il sistema, acetilcolina-acetilcolinesterase nell ipofisi. In "Pathophysiological Diencephalica". Ed. S.B. Curri, L. Martini and W. Kovac, Ed. Springer, Vienna, 773-775.
- PASTEELS J.L. - 1954 - Suppression des connections hypothalamo-hypophysaires chez la larve de Pleurodèle (*Pleurodeles Waltlii*). Son retentissement sur la différenciation de l'hypophyse et son activité thyrotrope. C. R. Soc. Biol., 148, 939-941.

- PASTEELS J.L. - 1957 - Recherches expérimentales sur le rôle de l'hypothalamus dans la différenciation cytologique de l'hypophyse chez Pleurodeles Waltlii. Arch. Biol., Liège, 68, 65-114.
- PASTEELS J.L. - 1960 - Etude expérimentale de l'hypophyse de Pleurodeles Waltlii, de leur fonction et de leur contrôle par l'hypothalamus. Arch. Biol., 71, 409-471.
- PASTEELS J.L. - 1963 - Recherches morphologiques et expérimentales sur la sécrétion de prolactine. Arch. Biol., 74, 439-553.
- PATTEN B.M. - 1958 - Foundations of embryology. Ed. Mc Graw-Hill Book Comp.
- PAYNE F. - 1942 - The cytology of the anterior pituitary of the fowl. Biol. Bull., 82, 79-111.
- PAYNE F. - 1946 - The cellular picture in the anterior pituitary of normal fowls from embryo to old age. Anat. Rec., 96, 77-91.
- PEARSE A.G.E. - 1956 - The esterases of the hypophysis and their functional significance. J. Pathol. Bact., 72, 471-487.
- PEARSE A.G.E. - 1960 - Histochemistry, theoretical and applied. Ed. Churchill, London.
- PEDERNERA E.A. - 1968 - Differentiation in vitro of chick embryo adrenal glands. Experientia, 24, 938-939.
- PEREK M., ECKSTEIN B. et ESHKOL Z. - 1959 - The effect of ACTH on adrenal ascorbic acid in laying hens. Endocrinology, 64, 831-832.
- PETROVIC A. - 1961 - Expériences d'association en culture organotypique de fragments pré-hypophysaires de cobaye adulte avec la thyroïde embryonnaire de poulet. Pathol. Biol., 9, 662-666.
- PFEIFFER C. - 1925 a - Note sur le développement de l'hypophyse des Oiseaux. C. R. Soc. Biol., 92, 1091-1093.
- PFEIFFER C. - 1925 b - Phénomènes mécaniques dans le développement de l'hypophyse chez les Oiseaux. C. R. Soc. Biol., 93, 761-763.
- PFEIFFER C. - 1925 c - Les premières phases du développement de l'hypophyse chez les Oiseaux. L'hypophyse, glande ouverte, indépendante. Rev. Fr. Endocr., 3, 236-248.
- PHILLIPS - 1962 - Evidence of early pituitary function in the white Leghorn chick. Anat. Rec., 144, 69-76.
- POKORNY F. - 1926 - Zur Vergleichenden Anatomie der Hypophyse. Z. ges. Anat., 78, 308-331.
- PORTET R. - 1960 - Effet de la thyroxine sur les échanges respiratoires de l'embryon de poulet. J. Physiol. Fr., 52, 200-201.
- PROPPER A. - 1970 - Etude expérimentale des premiers stades de la morphogénèse mammaire. Ann. Biol., 9, 267-275.

- PROPPER A. et GOMOT L. - 1967 - Interactions tissulaires au cours de l'organogenèse de la glande mammaire de l'embryon de lapin. C. R. Acad. Sc., 264, 2573-2575.
- PURVES H. D. - 1961 - Morphology of the hypophysis related to its function. In "Sex and Internal Secretions", Ed. Williams et Wilkins Co., Baltimore, 1, 161-231.
- RACADOT J. - 1949 - La différenciation des cellules pituitaires au cours du développement. Arch. Anat. micr. Morphol. expér., 38, 318-352.
- RACADOT J. - 1963 - Contribution à l'étude des types cellulaires du lobe antérieur de l'hypophyse chez quelques Mammifères. In "Cytologie de l'adénohypophyse" publié par J. Benoit et C. Da Lage. Edit. C.N.R.S., Paris, 33-48.
- RAHN H. - 1938 - The morphogenesis and cytological differentiation of the chick pituitary. Anat. Rec., 70 (suppl.), 64.
- RAHN H. - 1939 - The development of the chick pituitary with special reference to the cellular differentiation of the pars buccalis. J. Morph. 64, 483-517.
- RAHN H. et DRAGER G. A. - 1941 - Quantitative assay of the melanophore dispersing hormone during the development of the chicken pituitary. Endocrinology, 29, 725-730.
- RAHN H. et PAINTER B. T. - 1941 - A comparative histology of the bird pituitary. Anat. Rec., 79, 297-312.
- RATHKE H. - 1838 - Über die Entstehung der glandula pituitaria. Arch. Anat. Physiol. Wissen. Med., 482-485.
- RAYNAUD A. - 1950 - Recherches expérimentales sur le développement de l'appareil génital et le fonctionnement des glandes endocrines des foetus de souris et de mulot. Arch. Anat. micr. Morphol. expér., 39, 518-576.
- RAYNAUD A. et FRILLEY M. - 1947 a - Destruction au moyen des rayons X des ébauches de l'hypophyse de l'embryon de souris au treizième jour de la vie intra-utérine. C. R. Acad. Sc., 225, 206-207.
- RAYNAUD A. et FRILLEY M. - 1947 b - Développement intra-utérin des embryons de souris dont les ébauches de l'hypophyse ont été détruites au moyen des rayons X au treizième jour de la gestation. I. Développement de l'appareil génital. C. R. Acad. Sc., 225, 596-598.
- REICHERT K. B. - 1840 - Die Entwicklungsleben im Wirbelthier-Reich. Berlin.
- REMY C. - 1962 - L'ablation du diencephale empêche la métamorphose chez le têtard du Crapaud accoucheur(Alytes obstetricans Laur.). C. R. Acad. Sc., 254, 567-568.

- REMY C. - 1969 - Contribution à l'étude expérimentale des mécanismes neuro-endocriniens intervenant dans la morphogenèse et la croissance des têtards d'Alytes obstetricans Laur. Thèse, Faculté des Sciences, Bordeaux.
- RINALDINI L.M. - 1959 - An improved method for the isolation and quantitative cultivation of embryonic cells. *Exp. Cell. Res.*, 16, 477-505.
- ROE J.H. et KUETHER C.A. - 1942 - The determination of ascorbic acid in whole blood and urine through the 2,4-dinitro phenylhydrazine derivative of dehydro-ascorbic acid. *J. Biol. Chem.*, 147, 399-407.
- ROMANOFF A. - 1960 - The avian embryo structural and functional development. Ed. The Mac Millan Company, New York.
- ROMANOFF A. et LAUFER H. - 1956 - The effect of injected thiourea of the development of some organs of the chick embryo. *Endocrinology*, 59, 611-619.
- ROMEIS B. - 1940 - Hypophyse. In "Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen. Hrsg. von W. von Möllendorf, 6. 3. Edit. J. Springer, Berlin.
- ROSSI V. - 1896 - Sui lobi laterali della Ipofisi. *Monit. Zool. Ital.*, 7, 240-243.
- ROST H. - 1939 - Die Entwicklung der Hypophyse der Haustaube und ihre rassetypische Ausbildung bei der Römertaube und der Mörchentaube. *Zeitschr. Wiss. Zool.*, 152, 221-276.
- RUDNICK D. - 1932 - Thyroid-forming potencies of the early chick blastoderm. *J. exp. Zool.*, 62, 287-313.
- RUSSELL D.H. - 1968 - Acetylcholinesterase in the hypothalamo-hypophyseal axis of the White-crowned Sparrow Zonotrichia leucophrys gambelli. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 11, 51-63.
- RUSSELL D.H. et FARNER D.S. - 1968 - Acetylcholinesterase activity in the anterior pituitary. *Life Sci.*, G. B., 7, 1217-1221.
- SAINT-REMY G. - 1895 - Sur la signification morphologique de la poche pharyngienne de Seessel. *C. R. Soc. Biol.*, 47, 423-425.
- SALAZAR H., MAC AULAY M.A., CHARLES D. et PARDO M. - 1969 - The human hypophysis in anencephaly. I. Ultrastructure of the pars distalis. *Arch. Path.*, 87, 201-211.
- SAWYER C.H. - 1943 a - Cholinesterase and the behavior problem in Amblystoma. I. The relationship between the development of the enzyme and early motility. II. The effect of inhibiting cholinesterase. *J. exp. Zool.*, 92, 1-29.
- SAWYER C.H. - 1943 b - Cholinesterase and the behaviour problem in Amblystoma. III. The distribution of cholinesterase in nerve and muscle throughout development. IV. Cholinesterases in nerveless muscle. *J. exp. Zool.*, 94, 1-31.

- SCHAFFERT R. R. et KINGSLEY G. R. - 1955 - A rapid, simple method for the determination of reduced, dehydro- and total ascorbic acid in biological material. *J. Biol. Chem.*, 212, 59-68.
- SCHECHTER J. - 1970 - A light and Electron Microscopic Study of Rathke's Pouch in Fetal Rabbits. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 14, 53-67.
- SCHECHTER J. - 1971 - The cytodifferentiation of the Rabbit pars distalis : an electron microscopic study. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 16, 1-20.
- SCHWIND J. L. - 1928 - The development of the hypophysis cerebri in the albino rat. *Amer. J. Anat.*, 41, 295-320.
- SEESSEL A. - 1877 - Zur Entwicklungsgeschichte des Vorderdarms. *Arch. Anat. Physiol.*, 449-466.
- SENGEL P. - 1958 - Recherches expérimentales sur la différenciation des germes plumaires et du pigment de la peau de l'embryon de Poulet en culture in vitro. *Ann. Sc. Nat. Zool.*, 20, 431-514.
- SIGOT M. - 1962 - Sur le rôle du mésenchyme dans la différenciation des glandes du proventricule chez le Poulet. *C. R. Acad. Sc.*, 254, 2439-2441.
- SMITH P. E. - 1914 - The development of the hypophysis in Amia calva. *Anat. Rec.*, 8, 499-506.
- SMITH P. E. - 1916 - Experimental ablation of the hypophysis in the frog embryo. *Science*, 44, 280-282.
- SMITH P. E. - 1920 - The pigmentary, growth and endocrine disturbance induced in the anuran tadpole by the early ablation of the pars buccalis of the hypophysis. *Amer. Anat. Mem.*, 11, 1-151.
- SOBEL H. - 1958 - The behaviour in vitro of dissociated embryonic pituitary tissue. *J. Embryol. exp. Morphol.*, 6, 518-526.
- SPRATT N. T. Jr. - 1947 - Regression and shortening of the primitive streak in the explanted chick blastoderm. *J. exp. Zool.*, 104, 69-100.
- STEIN K. F. - 1929 - Early embryonic differentiation of the chick hypophysis as shown in chorio-allantoic grafts. *Anat. Rec.*, 43, 221-237.
- STEIN K. F. - 1933 - The location and differentiation of the presumptive ectoderm of the forebrain and hypophysis as shown by chorio-allantoic grafts. *Physiol. Zool.*, 6, 205-335.
- STENDELL W. - 1914 - Die hypophysis cerebri. *Lehrbuch der Vergleichenden mikroskopischen Anatomie der Wirbeltiere*. Ed. A. Opel, Jena, 8, 1-168.
- STOCUM D. - 1966 - The effects of thiourea and cortisone acetate on duodenal length and diameter and on morphogenesis of duodenal villi in chick embryos. *J. Morphol.*, 118, 183-196.
- STOLL R. - 1939 a - L'agénésie de l'hypophyse et de la thyroïde est sans influence sur le développement de l'embryon de poulet. *C. R. Soc. Biol.*, 130, 926-928.

- STOLL R. - 1939 b - Recherches sur le rôle de l'hypophyse et de la thyroïde embryonnaires dans le développement de l'embryon de Poulet. Thèse Médecine, Strasbourg.
- STUDITSKII A. N. - 1946 - Endocrine correlation in the embryonal development of Vertebrates. *Nature*, 157, 427-430.
- STUTINSKY S. F. - 1958 - Contribution à l'étude du complexe hypothalamo-neurohypophysaire. Soc. Fr. Micr. th. appl., mémoire hors série n° 2. Ed. Masson et Cie, Paris.
- SUGIMOTO M. et ENDO H. - 1969 - Effect of hydrocortisone on the keratinization of chick embryonic skin cultured in a chemically defined medium. *Nature*, London, 222, 1270-1272.
- TAHMISIAN T. N. - 1943 - Enzymes in ontogenesis : cholinesterase in developing *Melanoplus differentialis*. *J. exp. Zool.*, 92, 199-213.
- THOMMES R. C. - 1958 - Vasculogenesis in selected endocrine glands of normal and hypophysectomized chick embryos. I. The thyroid. *Growth*, 22, 243-264.
- THOMMES R. C. et AGLINSKAS A. S. - 1966 - Endocrine control of yolk sac membrane glycogen in the developing chick embryo. II. Effects of hypophysectomy. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 7, 179-185.
- THOMMES R. C. et FIRLING C. E. - 1964 - Blood glucose and liver glycogen levels in glucagon treated chick embryos. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 4, 1-8.
- THOMMES R. C. et JUST J. J. - 1964 - Endocrine control of yolk sac membrane glycogen levels in the developing chick embryo. I. Glucagon. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 4, 614-623.
- THOMMES R. C. et JUST J. J. - 1966 - A re-evaluation of the effects of "hypophysectomy", by surgical decapitation on the glycogen content of the developing chick embryo. *Endocrinology*, U.S.A., 79, 1021-1022.
- THOMMES R. C., Mc CARTER Ch. F. et LE HAO NGUYEN - 1968 - Endocrine control of yolk-sac-membrane glycogen in the developing chick embryo. III. Effects of thiourea addition. *Physiol. Zoöl.*, 41, 491-499.
- THOMMES R. C. et MATHEW G. - 1969 - Endocrine control of yolk-sac-membrane glycogen in the developing chick embryo. IV. Effects of Insulin Addition. *Physiol. Zoöl.*, 42, 311-319.
- THOMMES R. C. et RUSSO R. - 1959 - Vasculogenesis in the adenohypophysis of the developing chick embryo. *Growth*, 23, 205-219.
- THURMOND W. et EAKIN R. M. - 1959 - Implantation of the amphibian adenohypophysial anlage into albino larvae. *J. exp. Zool.*, 140, 145-168.
- TILNEY F. - 1913 - An analysis of the juxta-neural epithelial portion of the hypophysis cerebri, with an embryological and histological account of a hitherto undescribed part of the organ. *Inter. Monatssch. Anat. Physiol.*, 30, 258-293.

- TIXIER-VIDAL A. - 1954 - Etude histophysiologique de l'hypophyse antérieure de l'embryon de poulet. Arch. Anat. micr. Morphol. expér., 43, 163-186.
- TIXIER-VIDAL A. - 1955 - Etude du développement in vitro de la thyroïde embryonnaire du Poulet par la méthode de culture d'organes de Wolff. C. R. Soc. Biol., 149, 1377-1379.
- TIXIER-VIDAL A. - 1956 a - Etude chronologique in vivo et in vitro des corrélations hypophyse thyroïde chez l'embryon de poulet. Arch. Anat. micr. Morphol. expér., 45, 236-253.
- TIXIER-VIDAL A. - 1956 b - Développement in vitro de la thyroïde embryonnaire du Poulet. Etude comparée de la différenciation suivant l'âge de l'explantation. C. R. Soc. Biol., 150, 1371-1375.
- TIXIER-VIDAL A. - 1957 a - Autodifférenciation in vitro sur milieu an hormonal de la fonction thyroïdienne de l'hypophyse embryonnaire du poulet. C. R. Soc. Biol., 151, 40-43.
- TIXIER-VIDAL A. - 1957 b - Influence exercée in vitro par divers tissus sur la réponse de la thyroïde de l'embryon de poulet de 8 jours à l'hypophyse embryonnaire de même âge. C. R. Soc. Biol., 151, 5-8.
- TIXIER-VIDAL A. - 1958 - Etude histophysiologique des relations hypophyse-thyroïde chez l'embryon de poulet. Arch. Anat. micr. Morphol. expér., 47, suppl., 235-340.
- TIXIER-VIDAL A. - 1963 - Histophysiologie de l'adénohypophyse des Oiseaux. In "Cytologie de l'adénohypophyse". Ed. C.N.R.S., Paris, 255-274.
- TIXIER-VIDAL A. - 1970 - Contrôle hypothalamique et différenciation des types cellulaires de l'adénohypophyse chez les Oiseaux. Données de l'autogreffe et de la culture d'organe. Ann. Biol., 9, 127-129.
- TIXIER-VIDAL A. et ASSENMACHER I. - 1963 - Action de la métopirone sur la préhypophyse du Canard mâle : essai d'identification des cellules corticotropes. C. R. Soc. Biol., 157, 1350-1354.
- TIXIER-VIDAL A. et ASSENMACHER I. - 1966 - Etude cytologique de la préhypophyse du pigeon pendant la couvaison et la lactation. Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat., 69, 489-519.
- TIXIER-VIDAL A., ASSENMACHER I. et BAYLE J.D. - 1965 - Etude cytologique de greffes hypophysaires ectopiques chez le Canard mâle. C. R. Acad. Sc., 260, 310-312.
- TIXIER-VIDAL A., FOLLETT B.K. et FARNER D.S. - 1967 - Identification cytologique et fonctionnelle des types cellulaires de l'adénohypophyse chez la Caille mâle, Coturnix coturnix japonica soumise à différentes conditions expérimentales. C. R. Acad. Sc., 264, 1739-1742.
- TIXIER-VIDAL A., FOLLETT B.K. et FARNER D.S. - 1968 - The anterior pituitary of the Japanese Quail, Coturnix coturnix japonica. The cytological effects of photoperiodic stimulation. Z. Zellforsch., 92, 610-635.

- TIXIER-VIDAL A. et GOURDJI D. - 1965 - Evolution cytologique et ultrastructurale de l'hypophyse du Canard en culture organotypique. Elaboration autonome de prolactine par les explants. C. R. Acad. Sc., 261, 805-808.
- TIXIER-VIDAL A., HERLANT M. et BENOIT J. - 1962 - La préhypophyse du Canard Pékin mâle au cours du cycle annuel. Arch. Biol., 73, 317-368.
- UEMURA H. - 1965 - Histochemical studies on the distribution of cholinesterase and alkaline phosphatase in the Vertebrate Neurosecretory system. Ann. Zool. Jap., 38, 79-96.
- USADEL K.H., DREWS U. et KUSSATHER E. - 1967 - Cholinesterase-Aktivität im Primitivknoten, in der Schwanzknospe und bei der chordaentwicklung des Hühnchens. Histochemie, 8, 219-236.
- UYEMATSU T. - 1940 - Experimentelle Untersuchungen über die Entwicklung der Hypophyse bei Anuren (Bufo). Okajimas Folia anat. Japon, 19, 391-457.
- VAN DETH J.H.M.G., VAN LIMBORGH J. et VAN FAASSEN F. - 1956 - Le rôle de l'hypophyse dans la détermination du sexe de l'Oiseau. Acta Neerl. Morph. Scand., 1, 70-80.
- VANHA-PERTTULA T. - 1966 - Esterases of the rat adenohypophysis. Cellular localization and activity in relation to secretory functions. Acta Physiol. Scand., 69, Suppl. 283, 1-104.
- VAN OORDT P.G.W.J. - 1963 - cf. GRIGNON G., 1963, Discussion.
- VENZKE W.G. - 1942 - The embryological development and physiology of endocrine organs of the common fowl. Iowa State Coll. J. Sci., 17, 145-148.
- VENZKE W.G. - 1943 - Endocrine gland weights of chick embryos. Growth, 7, 265-271.
- VERNE J. - 1954 - La cytochimie des estérases chez les Mammifères. Ann. Biol., 30, 129-143.
- VIDAL A. - 1952 - Influence de la thiourée sur le développement de l'embryon de poulet. Ann. Endocrinol., 13, 982-990.
- VIDAL A. - 1953 - Influence de la thyroxine sur la différenciation de la thyroïde embryonnaire du Poulet. Ann. Endocrinol., 14, 437-449.
- VIDAL A. - 1954 - Influence de la thiourée sur l'histogenèse de l'hypophyse antérieure de l'embryon de poulet. C. R. Soc. Biol., 148, 889-891.
- VOGEL N.W. - 1956 - Pituitary-Gonad Relationship in the chick embryo. Doctoral Dissertation, Indiana University.
- VOGEL N.W. - 1957 - Free tissue cholesterol and growth in chick embryos hypophysectomized by "decapitation". Anat. Rec., 127, 382.

- VOIGT A. - 1939 - Untersuchungen über die Zytogenese der Drüsenzellen im Hypophysenvorderlappen des Haushuhns. Zeitschr. Zellforsch. Mik. Anat., 29, 502-552.
- VOITKEVITCH A. A. - 1963 - On the relation of Neurosecretion to Growth and Cell Differentiation in the Amphibian Adenohypophysis. Gen. Comp. Endocrinol., 3, 554-567.
- WATTERSON R. L., VENEZIANO P. et BROWN D. - 1958 - Development of the glycogen body of the chick spinal cord. V. Effects of hypophysectomy on its glycogen content. Physiol. Zoöl., 31, 49-59.
- WELLS L. J. - 1948 - Some experimental evidence of production of adrenotrophin by the fetal hypophysis. Proc. Soc. exp. Biol. Med., 68, 487-488.
- WILLIER B. H. - 1924 - The endocrine glands and the development of the chick. I. The effect of thyroid graft. Am. J. Anat., 36, 67-103.
- WILLIER B. H. - 1955 - Ontogeny of endocrine correlation. In "Analysis of development". Ed. W. B. Saunders Company, Philadelphia - London, 574-619.
- WILLIER B. H. et RAWLES M. - 1931 - The relation of Hensen's node to the differentiating capacity of whole chick blastoderms as studied in chorio allantoic grafts. J. exp. Zool., 59, 429-465.
- WILSON M. E. - 1949 a - Certain aspects of the developmental and definitive cytology of the chick pituitary. Anat. Rec., 103, Abstr. 105.
- WILSON M. E. - 1949 b - Cytology of the embryonic and definitive chick pituitary gland. Anat. Rec., 103, Abstr. 172.
- WILSON M. E. - 1952 - The embryological and cytological bases of regional patterns in the definitive epithelial hypophysis of the chick. Amer. J. Anat., 91, 1-49.
- WINGSTRAND K. G. - 1951 - The structure and development of the avian pituitary. Lund, C. W. K. Gleerup.
- WINGSTRAND K. G. - 1966 - Comparative anatomy and evolution of the hypophysis. In "The Pituitary Gland". Ed. G. W. Harris, B. T. Donovan, Butterworths, London, 1, 58-126.
- WISLOCKI G. B. - 1937 - The meningeal relations of the hypophysis cerebri. II. An embryological study of the meninges and blood vessels of the human hypophysis. Amer. J. Anat., 61, 95-129.
- WITSCHI E. - 1949 - Utilization of the egg albumen by the avian foetus. Contr. Ornithol. biol. Wissench. Winter, Heidelberg, 111-122.
- WITSCHI E. - 1956 - Development of Vertebrates. Ed. W. B. Saunders Comp. Philadelphia-London.
- WOLFF Et. - 1936 - Les bases de la tératogénèse expérimentale des Vertébrés Amniotes d'après les résultats de méthodes directes. Arch. Anat. Hist. Embryol., 22, 1-382.

- WOLFF Et. - 1948 - Cf. GIROUD A. et BOISSELOT J. , 1948. Discussion.
- WOLFF Et. et HAFFEN K. - 1951 a - Sur la culture in vitro des glandes génitales des embryons d'Oiseau : obtention de la différenciation sexuelle normale et de l'intersexualité expérimentale des gonades explantées. C. R. Acad. Sc. , 233, 439-441.
- WOLFF Et. et HAFFEN K. - 1951 b - Sur les résultats de la culture in vitro des gonades embryonnaires des Oiseaux. C. R. Soc. Biol. , 145, 1388-1391.
- WOLFF Et. et HAFFEN K. - 1952 a - Sur une méthode de culture d'organes embryonnaires in vitro. Texas Rep. Biol. Med. , 10, 463-472.
- WOLFF Et. et HAFFEN K. - 1952 b - Sur le développement et la différenciation sexuelle des gonades embryonnaires d'Oiseau en culture in vitro. J. exp. Zool. , 119, 381-399.
- WOLFF Et. et HAFFEN K. - 1952 c - Sur une technique permettant la culture in vitro des gonades embryonnaires des Oiseaux. C. R. Acad. Sc. , 234, 1396-1398.
- WOLFF Et., HAFFEN K. et DIETERLEN F. - 1960 - Influence des états nutritionnels sur la différenciation et le fonctionnement des glandes endocrines embryonnaires. Ann. Nutrit. Al. , 14, 11-29.
- WOLFF Et. et KANTOR S. - 1937 - Conditions dans lesquelles on réalise l'agénésie de l'hypophyse chez les cyclocéphales obtenus expérimentalement. C. R. Soc. Biol. , 126, 707-709.
- WOLFF Et. et LUTZ H. - 1939 - Sur une modification apportée à la technique des greffes chorio-allantoïdiennes. C. R. Soc. Biol. , 132, 117-119.
- WOLFF Et. et STOLL R. - 1937 - Le rôle de l'hypophyse dans le développement embryonnaire du poulet d'après l'étude des cyclocéphales expérimentaux. C. R. Soc. Biol. , 126, 1215-1217.
- WOODS J. E. et WEEKS R. L. - 1969 - Ontogenesis of the Pituitary-Gonadal Axis in the chick Embryo. Gen. Comp. Endocrinol. , 13, 242-254.
- WOODSIDE G. L. - 1937 - Experimentally induced hyperthyroidism in the chick embryo. Anat. Rec. , 67, 423-430.
- YATVIN M. B. - 1966 a - Polysome morphology : Evidence for endocrine control during chick embryogenesis. Science, 151, 1001-1003.
- YATVIN M. B. - 1966 b - Hypophyseal control of genetic expression during chick feather and skin differentiation. Science, 153, 184-185.
- YOUNGSTROM K. A. - 1938 - On the relation between cholinesterase and the development of behaviour in amphibia. J. Neurophysiol. , 1, 357-363.
- ZACKS S. - 1954 - Esterases in the early chick embryo. Anat. Rec. , 118, 509-538.

- ZARROW N.W. et BALDINI J. T. - 1952 - Failure of ACTH and various stimuli to deplete the ascorbic acid content of the adrenal gland of the quail. *Endocrinology*, 50, 555-562.
- ZARROW N.W. et ZARROW I. G. - 1950 - Ascorbic acid in the adrenal gland of the duck. *Anat. Rec.*, 108, 600-601.
- ZWILLING E. - 1955 - Ectoderm-mesoderm relationship in the development of the chick embryo limb bud. *J. exp. Zool.*, 128, 423-442.

